Zur Reaktion der Astrocyten nach Läsion des ZNS verschiedener Wirbeltiere

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt
von

Roland Kästner
aus Nürnberg

1985

Zur Reaktion der Astrocyten nach Läsion des ZNS verschiedener Wirbeltiere

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt
von

Roland Kästner
aus Nürnberg

1985

Tag der mündlichen Prüfung	26. 4. 1985
Dekan	Prof. Dr. H. U. Seitz
1. Berichterstatter	Priv.-Doz. Dr. H. Wolburg
2. Berichterstatter	Prof. Dr. W. Pfeiffer

Herrn Priv.Doz.Dr.H.Wolburg danke ich für die Betreuung der Arbeit, sowie für die Ratschläge und Diskussionen herzlich.

Dank schulde ich auch meiner Frau für Ihre Geduld und Mitarbeit, sowie meinen Eltern für die finanzielle Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

I EINLEITUNG . . . . . Seite 1

II MATERIAL UND METHODEN 7
1. Versuchstiere 7
2. Operationen 7
3. Histologie 9
4. Flächenmessungen 10

III ERGEBNISSE 11
1. Histologie der Sehnerven, unter besonderer Berücksichtigung der Membranarchitektur der Astrocyten 11
1.1. Fische (Goldfisch und Karausche) . . 12
1.2. Amphibien (Teichfrosch) 19
1.3. Reptilien (Dosenschildkröte und Echse) 21
1.4. Vögel (Haustaube und Haushuhn) . . 23
1.5. Säugetiere (Ratte) 25
1.5.1. Ontogenese 25
1.5.2. Adulte Tiere 25
2. Reaktion der Astrocyten auf Läsion des Nervus opticus 34
2.1. Fische (Goldfisch und Karausche) . . 34
2.1.1. Degeneration 34
2.1.2. Regeneration 37
2.2. Vögel (Haushuhn) 44
2.3. Säugetiere (Ratte) 47
2.3.1. Neonatale und juvenile Ratten . 47
2.3.2. Adulte Ratte 52

IV DISKUSSION 58
1. Orthogonale Partikelkomplexe auf Astrocyten und anderen Zellen 58
2. Zwischenzellverbindungen auf Astrocytenmembranen 61
3. Reaktion der Astrocyten bei Degeneration bzw. Regeneration des ZNS 62
4. Hypothese zur Rolle der Astrocyten für die Regenerationsfähigkeit des ZNS 64

V ZUSAMMENFASSUNG 66

VI LITERATUR 68

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546522_0057

I EINLEITUNG

Seit langem ist bekannt, daß Niedere Wirbeltiere Teile des Zentralnervensystems nach Verletzungen regenerieren können (Cajal, 1928; Windle, 1955). Die ersten Untersuchungen beschränkten sich auf rein histologische Befunde, später kamen dann auch funktionelle Untersuchungen hinzu (Springer et al, 1977 a,b; Edwards, 1981). Besonders gut untersucht wurde die Regenerationsfähigkeit des ZNS beim Goldfisch (Attardy and Sperry, 1963; Murray, 1976; Lo and Levine, 1980; Wolburg, 1981; Kästner and Wolburg, 1982); daneben gibt es einige Untersuchungen über Amphibien (Piatt, 1955; Clemente, 1964; Stensaas and Feringa, 1977; Singer et al, 1979; Stensaas, 1983). Dagegen ist das Regenerationsvermögen des ZNS von Reptilien weniger gut bekannt (Simpson, 1968; Egar et al, 1970). Vögel und Säugetiere haben die Fähigkeit zur Regeneration zentralnervöser Strukturen verloren (Windle, 1955; Schlote, 1970; Reier et al, 1983). Bei geeigneter Wahl der Läsionsstelle im Säugetier-ZNS - z.B. intracraniale Durchtrennung des Nervus opticus der Ratte (Richardson et al, 1982) - kommt es zwar zum Aussprossen ("sprouting") von optischen Axonen, aber weder zum gezielten Auswachsen ("elongation") der Axone noch zur funktionellen Wiederherstellung von Synapsen an der richtigen Stelle. Zu ähnlichen Ergebnissen nach Läsionen an optischen Axonen von Vögeln und Säugetieren kamen z.B. Cajal (1928), Cankovic (1968), Muchnick and Hibbard (1980) und Goldberg and Frank (1980).
Im Gegensatz dazu sind die Axone von Vorderhornzellen, deren Perikarya im ZNS liegen und die ihre Nervenfasern ins periphere Nervensystem (PNS) aussenden bei allen Wirbeltieren regenerationsfähig. Durch verschiedene Eingriffe (z.B. Hormone) kann das Auswachsen durchtrennter Nervenfasern im ZNS zwar verbessert werden, doch ist es bisher nicht gelungen nach einer Durchtrennung des Rückenmarks eines adulten Säugetieres - dies wäre im Hinblick auf die Vielzahl querschnittsgelähmter Patienten von bedeutendem medizinischen Interesse - eine funktionelle Regeneration auszulösen,wie es im peripheren Nervensystem von Säugetieren

möglich ist. Eine Zwischenstellung zwischen PNS und ZNS nimmt das olfaktorische System der Säugetiere ein; hier findet während des gesamten Lebens eine ständige Erneuerung von Nervenzellen statt und das System ist auch nach Läsionen regenerationsfähig. Tatsächlich scheinen die primären olfaktorischen und vomeronasalen Projektionen die einzigen Axone adulter Säugetiere zu sein, die ins ZNS wachsen und wieder funktionelle Synapsen bilden können (Raisman, 1985).

Über die Ursache für das Fehlen der Regenerationsfähigkeit des ZNS bei Höheren Wirbeltieren gibt es mehrere Theorien (Kiernan, 1979; Guth et al, 1981):

1. Die Einwanderung von Fibroblasten und die Bildung einer dichten kollagenen Matrix behindern das Wachstum der Neuriten (Windle, 1955; Matthews et al, 1978).

2. Die Bildung einer Astrocytenschranke an der freigelegten Oberfläche des ZNS verhindert das Auswachsen regenerierender Nervenfasern (Übersicht bei Reier et al, 1983).

3. Eine fortschreitende Nekrose um die Läsion im ZNS und die Bildung von Hohlräumen ("cystic cavities") verhindern die Regeneration (Kao, 1974).

4. Das Fehlen einer zellulären Matrix, die wie dies im PNS der Fall ist die regenerierenden Axone leitet, führt zum Mißlingen der Regeneration (Weiss and Taylor, 1946).

5. Die Bildung "falscher" Synapsen verhindert durch "Kontakt-Hemmung" ein weiteres Wachstum der Axone (Bernstein and Bernstein, 1967, 1971).

6. Mangel an Wachstumspotential bei reifen ZNS-Neuronen (Legros and Clark, 1942, 1943).

7. Mangel an neuronalen und/oder glialen trophischen Faktoren für das Neuron, die zur Entfaltung der intrinsischen Fähigkeit des Neurons zur Regeneration essentiell sind (Varon and Bunge, 1978).

8. Die Entwicklung einer Autoimmunreaktion gegen verletztes ZNS-Gewebe hat einen negativen Einfluß auf die Regeneration (Berry and Riches, 1974).

Sicherlich sind für das Fehlen der Regeneration im ZNS von Säugetieren mehrere der aufgeführten Gründe und vielleicht auch noch andere verantwortlich.

Bereits Ramon y Cajal (1928) erkannte, wie wichtig die Umgebung eines Neurons für die Regeneration sein kann; Axone die in einer bestimmten Umgebung regenerieren können (Spinalganglion), können dies nicht mehr, wenn sie das ZNS erreichen. Der wichtigste Unterschied zwischen beiden Umgebungen ist die extraneuronale Matrix. Während im Spinalganglion Schwann-Zellen, Fibroblasten und kollagenes Bindegewebe vorkommen, gibt es im ZNS Astrocyten, Ependymzellen und Oligodendrocyten. Die Grenze zwischen ZNS und PNS ist recht scharf und kann durch morphologische und immunhistochemische Kriterien definiert werden [Unterschiede zwischen zentralem und peripherem Myelin (Peters et al, 1976) sowie im Gehalt an saurem Gliafilament-Protein (GFAP; Astrocyten; Bignami and Dahl, 1974) bzw. an Vimentin (Schwannsche Zellen; Antilio-Gambetti et al, 1982)]. Durch Transplantationsversuche konnte gezeigt werden, daß zentrale Nervenfasern in ein peripheres Nerventransplantat einwachsen können (Kao et al, 1977; Chi et al, 1980; Richardson et al, 1980, 1984; Benfey and Aguayo, 1982), sie hören aber auf zu wachsen, wenn sie auf der anderen Seite wieder ZNS-Gewebe erreichen. Dies zeigt, daß die Neurone des Säugetier-ZNS nicht grundsätzlich die Fähigkeit zum regenerativen Wachstum verloren haben, sondern die Umgebung einen entscheidenden Einfluß auf das Regenerationsvermögen hat. Andererseits konnte Reier (1979) durch homologe Transplantationsexperimente an Xenopus-Fröschen zeigen, daß auch eine dichte Glianarbe wie sie nach Enukleation entsteht, bei der Transplantation auf die andere Seite des gleichen Tieres nicht zur Behinderung der optischen Axone führt, d.h. die regenerierenden Axone durchwachsen diese Astrocytennarbe. Die Ursachen für dieses unterschiedliche Verhalten der Axone sind nicht bekannt.

Unklar bleibt, wo in der Phylogenie die Regenerationsfähigkeit des ZNS verlorengegangen ist. Vermutlich besteht ein Zusammenhang zwischen dem unterschiedlichen Verhalten der Astrocyten im ZNS Niederer und Höherer Wirbeltiere als Antwort auf eine Läsion (Reier et al, 1983). Während nach einer Läsion des ZNS bei Niederen Wirbeltieren die Astrocyten proliferieren und Tunnelstrukturen bilden und dadurch die Axonregenerate an ihre Zielorte leiten (Reier and Webster, 1974), bilden die proliferierenden Astrocyten nach Läsionen im ZNS Höherer Wirbeltiere ein dichtes Netzwerk, das ein Durchdringen von Axonregeneraten unmöglich macht. Nach der "Blueprint-Hypothese" (Singer et al, 1979) werden sowohl während des Auswachsens von Axonen während der Ontogenese als auch bei regenerierenden Axonen von Gliazellen längsgerichtete Kanäle gebildet, die wachsende Axone zu ihrem Bestimmungsort leiten. Die Frage, inwieweit das Nervenfaserwachstum während der Ontogenese mit der Nervenfaserregeneration im adulten Tier vergleichbar ist, kann bisher nur unvollständig beantwortet werden. Aus Untersuchungen zur Ontogenie und Phylogenie der Faktoren, die für das Leiten wachsender Nervenfasern zu ihren Zielgebieten verantwortlich sind, wurden 3 Theorien über das gerichtete Nervenfaserwachstum entwickelt: eine chemische, eine elektrische und eine mechanische (Clemente, 1964):

Die von Ramon y Cajal 1928 entwickelte chemische Theorie (Neurotropismus) besagt, daß die auswachsenden Nervenfasern durch spezifische chemische Substanzen angezogen werden (Chemotaxis).

Die elektrische Theorie (Neurobiotaxis) macht Unterschiede im elektrischen Potential für die Orientierung von Nervenfasern verantwortlich.

Die dritte Theorie (Harrison, 1910, 1914; Dustin, 1910) macht mechanische Strukturen für die Orientierung der Nerven verantwortlich (Kontaktführung).

Bis heute ist nicht geklärt, ob eine Theorie alleine zutreffend ist, oder ob es mehrere Faktoren sind, die das Wachstum der Nervenfasern beeinflussen.

Ein beliebtes und weit verbreitetes Modell für Untersuchungen zur Regeneration des ZNS ist das optische System Niederer Wirbeltiere (Arora and Sperry, 1963; Kruger and Maxwell, 1969; Reier and Webster, 1974; Lanners and Grafstein, 1980; Fawcett and Gaze, 1981; Wolburg, 1981). In der Sehbahn verlaufen die Axone der in der Ganglienzellschicht der Retina liegenden Nervenzellen durch den Nervus opticus, das Chiasma opticum und den Tractus opticus bis in die primären optischen Zentren im Zwischen- und Mittelhirn (Tectum opticum bzw. Corpus geniculatum laterale). Die Faserkreuzung im Chiasma opticum ist bei Niederen Wirbeltieren komplett, bei Höheren nur partiell und je nach Tierart verschieden (bei der Ratte kreuzen 90 - 95% der Fasern, 5 - 10% bleiben auf der ipsilateralen Seite).

Nach Quetschung (bzw. Durchtrennung) beider Sehnerven des Goldfisches degeneriert der distal der Läsion liegende Anteil der Axone, die Perikarya der Nervenzellen in der Ganglienzellschicht und der proximale Anteil der Axone bleiben erhalten. Es findet anschließend eine Zellteilregeneration statt, die nach ca. 30 Tagen zur Wiedererlangung des Sehvermögens führt (Kästner and Wolburg, 1982). Nach Zerstörung der Ganglienzellschicht in der Retina und Degeneration des Nervus opticus findet eine Regeneration der gesamten Nervenzellen in der Retina statt (Maier and Wolburg, 1979). Auch in diesem Fall kommt es nach 60 - 100 Tagen zur Wiedererlangung des Sehvermögens (Kästner and Wolburg, 1982).

Da bei den Höheren Wirbeltieren nach einer Quetschung des Sehnerven hinter dem Bulbus oculi durch den nahezu vollständigen Ausfall der Blutversorgung des Augapfels das gesamte Auge nekrotisch wird, wurde in den späteren Versuchen der vorliegenden Arbeit die Enukleation vorgezogen. In beiden Fällen kommt es zur Degeneration des Nervus opticus mit einer Proliferation der Astrocyten und Bildung der typischen Glianarbe ("glial scar"). Da die Astrocyten häufig für das Fehlen der Regenerationsfähigkeit im ZNS Höherer Wirbeltiere verantwortlich gemacht werden, wurde in dieser Arbeit vor allem

die Ultrastruktur und Membranarchitektur der Astrocyten in den verschiedenen Wirbeltierklassen und die Veränderung der Ultrastruktur während und nach der Proliferation der reaktiven Astrocyten aufgrund von Läsionen im ZNS untersucht.

II MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 108 Goldfische und Karauschen (Carassius auratus und C. carassius) mit einer Länge von 8 - 12 cm; 11 Teichfrösche (Rana esculenta), 7 Tigersalamander (Ambystoma tigrinum), 2 Dosenschildkröten (Terrapene carolina triunguis), 3 Echsen (Anolis chlorocyanus), 2 Haustauben, 6 Haushühner (ca. 2kg Körpergewicht) und 82 weiße Laborratten, davon waren 25 Tiere fetal (17. - 19. Ontogenesetag) und 36 juvenil (1. - 50. Lebenstag).

Die Fische wurden von W.Grassl, Dachau bezogen und bei ca. 16°C in 40 x 20 x 30 cm großen Becken gehalten; die künstliche Beleuchtung wurde im 12 Stunden Rhythmus an und abgeschaltet. Die Frösche lebten bei 10°C in einem Kühlraum des Instituts für Biologie III. Die Tigersalamander erhielt ich vom Anatomischen Institut der GHS Essen. Die Schildkröten und Echsen wurden von P.Hoch, Waldkirch bezogen und in Terrarien des Instituts für Biologie III gehalten und versorgt. Die Tauben hat mir freundlicherweise Herr Pogorzalek zur Verfügung gestellt; die Hühner stammen von F.Teufel, Rottenburg-Ergenzingen, sie befanden sich während der Versuche im Freien. Die Ratten stammen aus der Zucht des Pathologischen Instituts.

2. Operationen

Zur Quetschung der Sehnerven wurden die Fische mit MS 222 (Sandoz) narkotisiert und auf einen feuchten Schaumstoff gelegt. Die Dauer der Operation betrug maximal 5 Minuten. Im frischen Wasser erholten sich die Tiere innerhalb von 15 Minuten. Zur Prüfung der Wiedererlangung des Sehvermögens (Kästner and Wolburg, 1982) wurde immer auf beiden Seiten

der Sehnerv gequetscht. Die Prüfung der Wiedererlangung des Sehvermögens erfolgte mit Hilfe des optokinetischen Nystagmus in einem Streifenzylinder (Kästner and Wolburg, 1982). Die Präparation der Fische erfolgte 2 - 225 Tage nach der Operation.

Die Hühner wurden mit KETANEST (50mg/ml) und 10% ROMPUN narkotisiert. Zur vollständigen Narkose waren 50 bzw. 160 mg Ketamin pro kg Körpergewicht notwendig. Um zu starke Blutungen zu verhindern, wurde der Augapfel halb abgetrennt und die Retina ausgeschabt. Nach Behandlung mit NEBACETIN wurden die Augenlider mit chirurgischer Seide zugenäht. Diese Operation wurde jeweils nur auf einer Seite durchgeführt. Die Überlebenszeit bis zur Präparation betrug 39 Tage.

An dem bei Ratten ca. 7 mm langen Stück des Nervus opticus zwischen Augapfel und Canales optici - der Durchtrittstelle des N. opticus durch den Schädel - sind relativ leicht operative Eingriffe am ZNS ohne Eröffnung des Schädels möglich. Die einseitige Quetschung des Sehnerven adulter Ratten wurde in Narkose mit KETANEST und ROMPUN durchgeführt. Die Dosierung betrug 100 mg Ketamin pro kg Körpergewicht und 1/10 - 1/5 ROMPUN. Nach dem Freilegen des oberen Teiles der hinteren Bulbushemisphäre wird der Bulbus mit einer Pinzette nach vorne gezogen, die Augenmuskulatur durchtrennt, das Fettgewebe und ein Teil der Tränendrüse entfernt und der Nervus opticus freigelegt. Dieser wird direkt hinter dem Bulbus oculi mit einer feinen Pinzette gequetscht. Nach Behandlung mit NEBACETIN wurde der Hautschnitt oberflächlich mit chirurgischer Seide vernäht. Die Überlebenszeit der adulten Ratten nach der Sehnervquetschung betrug 2 - 100 Tage .

Die Enukleation der Ratten wurde am 5. Lebenstag durchgeführt (Körpergewicht ca. 10 g). Die Augenlider sind zu diesem Zeitpunkt noch fest verschlossen. Die Ratten wurden mit Äther

narkotisiert. Mit einer Pinzettenschere wurde das rechte Augenlid geöffnet, der darunterliegende Bulbus mit einer Pinzette angehoben und von der Augenmuskulatur und vom Sehnerv abgetrennt. Die Operation wurde nur auf einer Seite durchgeführt. Die Versorgung der Wunde erfolgte mit blutstillender Watte und NEBACETIN, verschlossen wurde die Wunde mit dem Gewebekleber HISTOACRYL blau. Die Wunden verheilten gut, es traten weder Infektionen auf noch gab es Ausfälle. Die Überlebenszeit betrug 20, 50 und 100 Tage.

3. Histologie

Präparationen: Die Fische, Amphibien und Reptilien wurden dekapitiert, die Sehnerven sofort unter einem Stereomikroskop freipräpariert. Bereits während der Präparation wurde das Gewebe mit Glutaraldehyd vorfixiert. Die Vögel und Ratten wurden zur Präparation mit NEMBUTAL narkotisiert. Ein Teil der Tiere wurde über das Herz, nach Ausspülen des Blutes mit physiologischer Kochsalzlösung mit Glutaraldehyd perfundiert. Dann wurde der Sehnerv freipräpariert und mindestens für weitere 2 Stunden in frischem Glutaraldehyd fixiert. Zur Kontrolle des Erhaltungszustandes der Astrocytenmembran wurde bei einem Teil der Ratten der Sehnerv in Narkose freipräpariert, das Tier getötet und der Sehnerv entnommen und immersionsfixiert.

Fixierung: Die Fixierung der Gewebe erfolgte in der oben beschriebenen Weise mit 2% Glutaraldehyd (POLYSCIENCE) in 0,1 M Cacodylatpuffer (pH = 7,4) für mindestens 2 Stunden. Danach kamen die Gewebestücke für mindestens 12 Stunden in 0,1 M Cacodylatpuffer mit Saccharose in dem sie zum Teil auch längere Zeit im Kühlschrank aufbewahrt wurden.

Einbettung: Nach dem Auswaschen des Glutaraldehyds mit Waschpuffer wurde das Gewebe in 1% OsO_4 in 0,1 M Cacodylatpuffer für 1 Stunde nachfixiert, dann wieder in Waschpuffer mit Saccharose gewaschen und über die Alkoholreihe entwässert,

wobei in 70% Alkohol für 12 Stunden mit Uranylacetat blockkontrastiert wurde. Über das Intermedium Propylenoxid wurde das Gewebe schließlich in Araldit eingebettet.

Schneiden: Die Semidünnschnitte (0,5µm) wurden an einem Ultramikrotom NOVA von LKB hergestellt und mit Toluidinblau gefärbt. Die Fotos von den Semidünnschnitten entstanden an einem Fotomikroskop II von ZEISS. Die Ultradünnschnitte (silberfarbene Schnitte ca. 80 nm dick) wurden ebenfalls mit dem Ultramikrotom NOVA von LKB hergestellt und mit Pioloform befilmten Netzchen (Grids) aufgefangen. Die Schnitte wurden dann mit Bleicitrat nachkontrastiert und am ZEISS EM 10 ausgewertet und fotographiert.

Gefrierätzung: Nach dem Fixieren und Waschen in Puffer kamen die Gewebestücke 1 - 2 Stunden vor dem Gefrierbruch in 10, 20 und 30% Glycerin in Cacodylatpuffer. Anschließend wurde das Gewebe auf Goldträgern in schmelzenden Stickstoff (N_2-slush) bei -210°C eingefroren. Das gefrorene Material wurde dann in einer Gefrierätzanlage BAF 400 D der Fa. BALZERS bei einem Vakuum von $> 5 \cdot 10^{-6}$ mbar und einer Temperatur von -110°C gebrochen und sofort bei 45° mit 2 nm Platin und zur Stabilisierung anschließend mit 20 nm Kohle senkrecht von oben bedampft. Die Replikas wurden mit Natriumhypochloritlösung (6%) für 2 - 3 Stunden gereinigt und danach mehrmals mit destilliertem Wasser gespült. Die Replikas wurden dann mit Pioloform beschichteten Grids aufgefangen und am EM 10 von ZEISS fotographiert.

4. Flächenmessungen

Die Auswertung der Gefrierätzbilder erfolgte an Positivabzügen mit einem Abbildungsmaßstab von 60 000 - 100 000 : 1. Die Partikelkomplexe wurden auf diesen Positiven durch Filzstiftmarkierung per Hand ausgezählt. Das vorher mit einem Stift umrandete Feld wurde dann auf einem Digital-Meßtablett (SUMMAGRAPHICS) mit Hilfe eines ALPHATRONIC-Computerprogramms gemessen.

III Ergebnisse

1. Histologie der Sehnerven unter besonderer Berücksichtigung der Membranarchitektur der Astrocyten

Sehnerv und Auge der Wirbeltiere entstehen entwicklungsgeschichtlich als Ausstülpung des Zwischenhirns. Als Bestandteil des ZNS ist der Sehnerv umgeben von einer Dura-, Arachnoidea- und Piascheide die sich im Augapfel als Sklera, Chorioidea und Pigmentepithel fortsetzen. Der Aufbau der Sehnervhüllen entspricht der Organisation der Hirnoberfläche. Zwischen den Nervenfasern und dem bindegewebigen Hüllmesenchym befindet sich eine lückenlose Schicht aus Fortsätzen der Grenzflächenglia, die von Astrocyten abstammt. Nach außen folgt zunächst eine Basalmembran, dann ein lockeres Bindegewebe das Fibrocyten und kollagene Fasern enthält und das der Pia mater homolog ist. Darauf folgt ein schmaler freier Raum (Subarachnoidealraum), der nach außen vom Arachnothel (Arachnoideascheide) begrenzt wird. Den Abschluß bildet ein derbes kollagenes Bindegewebe, das der Dura mater entspricht und mit der Sklera des Augapfels verbunden ist. Das lamelläre Bindegewebe der Pia mater bildet im Sehnerven Septen, die jeweils größere Nervenfaserbündel umgeben. Der Sehnerv enthält die Axone der Ganglienzellen in der Retina. Die Anzahl der markhaltigen Fasern in einem Querschnitt des Nervus opticus hängt von der Species ab (nach Polyak, 1957 und Schlote, 1970):

	Anzahl markhaltiger Nervenfasern im N.opt.	Durchmesser des Nervus opticus
Frosch	29 000	0,2 x 0,5 mm
Goldfisch	53 000	0,6 - 0,8 mm
Ratte	75 000 - 100 000	0,5 - o,7 mm
Huhn	414 000	2,5 x 3,5 mm
Taube	988 000	2 mm
Mensch	1 186 000	3 x 4 mm

Die Nervenfasern der Ganglienzellschicht überkreuzen sich je nach Art partiell im Chiasma opticum und reichen von der Retina bis in die primären Sehzentren des Gehirns (Tectum opticum bzw. Corpus geniculatum). Neben den Axonen befinden sich im Sehnerven 2 Arten von Gliazellen: 1. Oligodendrogliazellen, die für die Bildung der Markscheiden im ZNS verantwortlich sind; wobei eine Oligodendrogliazelle immer mehrere (bis 50) Axone mit einer Myelinscheide umgibt. Die Oligodendrogliazellen haben ein ribosomenreiches Cytoplasma, sie enthalten Mikrotubuli (Durchmesser 12 nm), aber keine Filamente. Die Kerne erscheinen im EM-Bild dunkel. 2. Die Astrocyten, sternförmig verzweigte Zellen, sind für die Aufrechterhaltung des ionalen Milieus im ZNS verantwortlich. Außerdem bilden sie die Glia limitans, die Abgrenzung des Nervengewebes gegenüber dem Bindegewebe, und umgeben die Kapillaren. Die Einhüllung der Kapillaren durch Astrocytenfortsätze ist auf dem Niveau der Niederen Wirbeltiere noch nicht vollständig (Kruger and Maxwell, 1967) , bei Säugetieren jedoch regelmäßig zu beobachten (Wolff and Bär, 1976). Ein eindeutiges Merkmal der Astrocyten sind die Gliafilamente, die dem Typ der intermediären Filamente angehören und aus dem sauren Gliafilament-Protein (GFAP) bestehen. Sie können sowohl im Ultradünnschnitt (Abb. 2a) als auch in der Gefrierätzreplika (Abb. 2c) identifiziert werden, ihr Durchmesser beträgt 9 - 10 nm. Die Zellkerne der Astrocyten erscheinen im EM-Bild heller als die der Oligodendrogliazellen (Abb. 1b). Die Astrocyten bilden breitere und wesentlich mehr Fortsätze als die Oligodendrocyten.

1.1. Fische

Der Sehnerv des Goldfisches und der Karausche ist durch bindegewebige Septen deutlich in Faszikel unterteilt (Abb. 1a). Der Querschnitt hat eine nierenförmige Gestalt und eine Fläche von ca. o,35 mm^2 (Durchmesser o,2 x o,5 mm). Größere Blutgefäße verlaufen in der bindegewebigen Umhüllung des N.opticus, kleinere Gefäße und Kapillaren sind über den

gesamten Querschnitt verteilt. Der Durchmesser markhaltiger Axone schwankt zwischen o,25 und 4,5 µm. Die Astrocyten sind an den hellen Zellkernen, dem hellen Cytoplasma und vor allem den Filamenten im Cytoplasma erkennbar (Abb. 1b). Weiter ist für die Astrocyten der Fische die Ausbildung von Desmosomen charakteristisch (Abb. 2a,b). Die zahlreichen dünnen Ausläufer der Astrocyten umgeben Gruppen von Axone und bilden so nochmals kleine Faszikel innerhalb der durch die bindegewebigen Septen gebildeten Kanäle (Abb. 1b, 2a, 3a).

Im Gefrierbruchbild sind die Astrocyten an folgenden Merkmalen eindeutig zu identifizieren: Beim Bruch durch das Cytoplasma an den intermediären Gliafilamenten (Durchmesser 10 nm), beim Bruch entlang der Membran an den Desmosomen. Außerdem sind die Astrocyten im Sehnerv die einzigen Zellen die direkten Kontakt zum kollagenen Bindegewebe haben. Wenn eine Zelle in einen Nervenfaszikel integriert ist und Kontakt zu kollagenen Fasern hat kann sie eindeutig als Astrocyt identifiziert werden (Abb. 3a,b). Die bisher für Astrocytenmembranen als charakteristisch geltenden orthogonalen Partikelkomplexe (OPK) (Dermietzel, 1974; Hatton and Ellisman, 1982) kommen nicht bei allen Wirbeltierarten vor. Bei den Fischen (Goldfisch und Karausche) fehlen sie auf der Astrocytenmembran (Abb. 3b, 4c). Neben den Desmosomen gibt es auf der Membran der Astrocyten der Karausche noch zwei weitere Arten von Zwischenzellverbindungen: Die gap junctions, die auch von Säugetierastrocyten bekannt sind und die tight junctions (Abb. 3a,b), die bisher auf Gliazellen im ZNS nur für die Oligodendrocyten beschrieben sind (Massa and Mugnaini, 1982). Alle drei Zwischenzellverbindungen (Desmosomen, gap- und tight junctions) sind auf der Astrocytenmembran von Goldfisch und Karausche häufig zu finden. Außerdem sind auf der Membran noch "Caveolen" zu sehen (Abb. 2b,c). Diese Vesikel reichen 50 - 80 nm tief in das Cytoplasma des Astrocyten hinein, ihr größter Durchmesser beträgt 50 - 70 nm, der Durchmesser der Öffnung ist 30 - 40 nm groß.

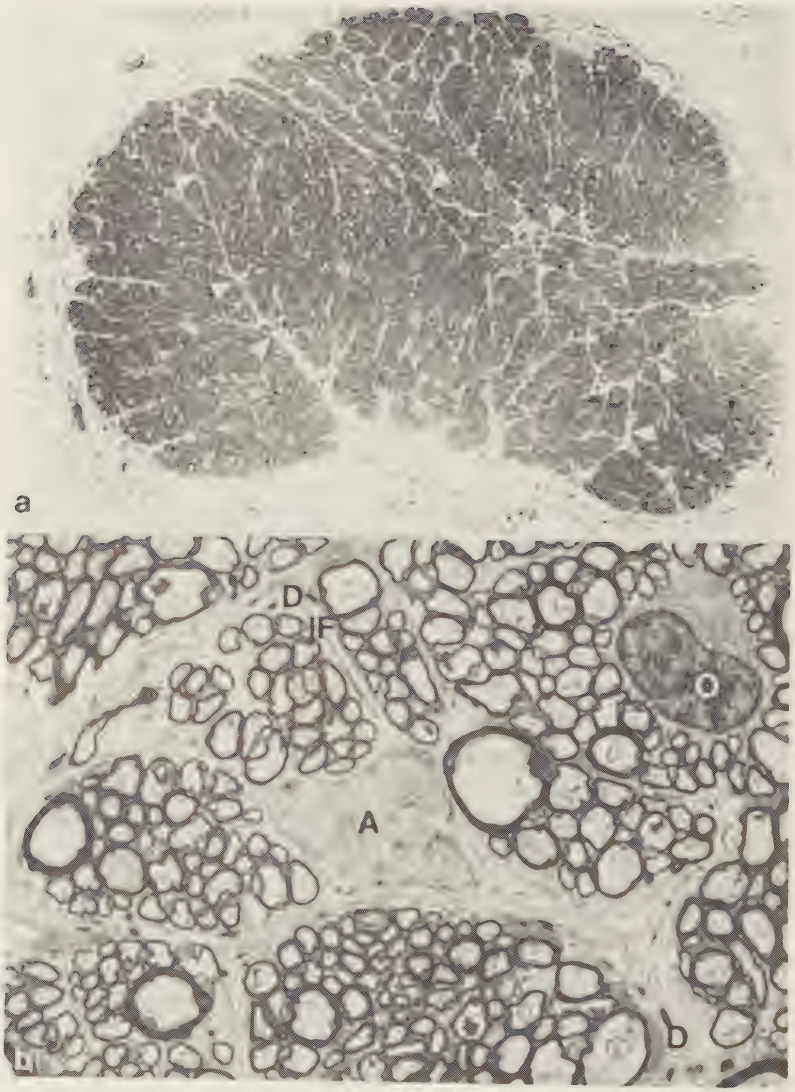


Abb. 1 Nervus opticus einer Karausche

a) Durch bindegewebige Septen (▷) ist der Sehnerv in Faszikel unterteilt. 180 : 1
b) O: Oligodenrogliazellkern; A: Astrogliazellkern; D: Desmosom; IF: intermediäre Filamente. 8 000 : 1

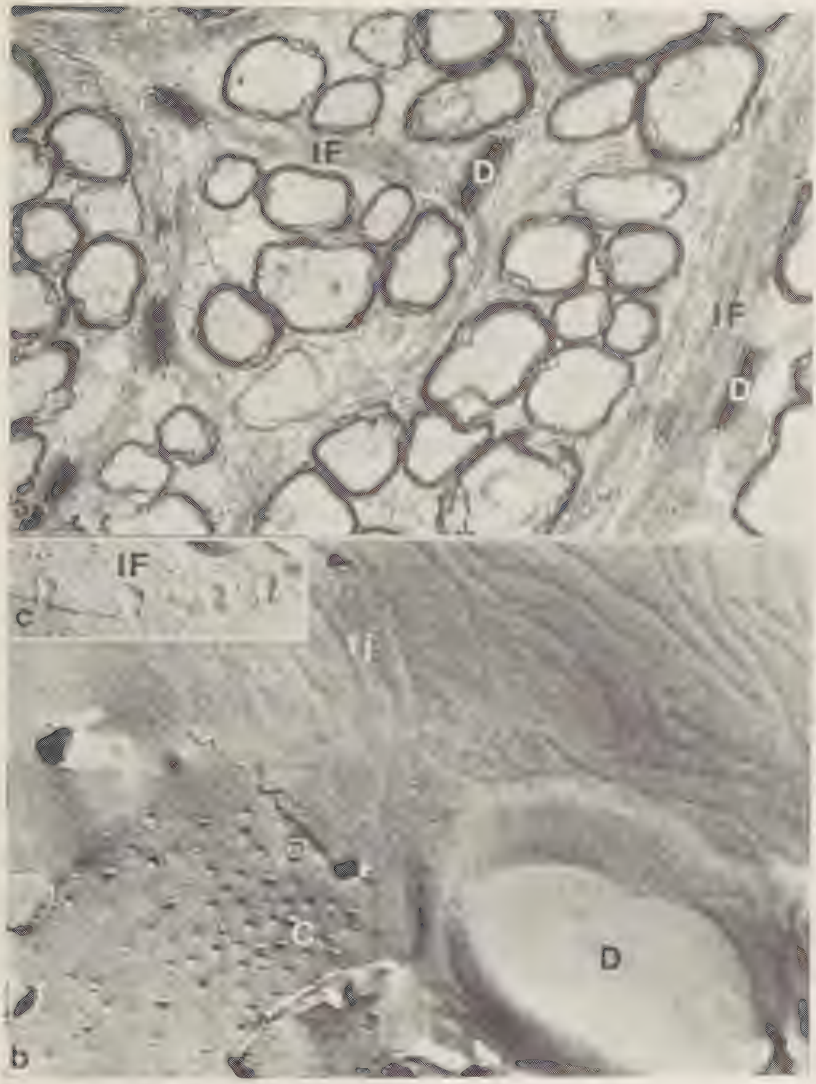


Abb. 2 a) Sehnerv einer unbehandelten Karausche
IF: intermediäre Filamente in Astrocytenfortsätzen
D: Desmosomen 25 000 : 1

2 b) Sehnerv der Karausche, 34 Tage nach retrobulbärer Quetschung. E-face einer Astrocytenmembran mit großem Desmosom (D) und tight junctions (tj). C: Caveolen auf der P-face eines zweiten Astrocyten. 72 000 : 1

2 c) Inset : Querbruch durch Caveolen in einer Astrocytenmembran. IF: intermediäre Gliafilamente. 110 000 : 1

Die Desmosomen, die immer 2 Astrocyten oder ihre Fortsätze miteinander verbinden, sind im Fischsehnerv groß ausgebildet und erreichen eine Länge von 3000 nm (Abb. 2b). Die Partikel, aus denen sie aufgebaut sind, haben einen Durchmesser von 3 bis 12 nm. Im Gegensatz zu den anderen Zwischenzellverbindungen scheinen E- und P-face der Desmosomen identisch aufgebaut zu sein.

Die Partikel der gap junctions erscheinen auf der P-face erhaben, auf der E-face als Eindellung (pits); sie sind also mit der P-face assoziiert. Die Partikel sind alle gleich groß und haben einen Durchmesser von 8 nm. Die gap junctions kommen im Sehnerv meistens zusammen mit tight junctions vor (Abb. 3a, b). Vereinzelt konnten auch singuläre gap junctions gefunden werden. Ihre Größe ist unterschiedlich und reicht von 50 bis 1000 nm.

Die tight junctions auf den Astrocytenmembranen bilden strangartige Verzweigungsmuster, sind mehr oder weniger stark gebogen und bilden ein Netzwerk. Auf der Membran von Oligodendrogliazellen verlaufen die tight junctions geradlinig und parallel, Verzweigungen treten nur vereinzelt auf. Allerdings scheint die Anordnung der tight junctions auch von der Gestalt und Größe der Zellausläufer abzuhängen (Staehelin, 1973), so daß lange schlanke Fortsätze von Astrocyten auch geradlinige tight junctions aufweisen, die parallel zum Fortsatz verlaufen. In solchen Fällen sind Desmosomen die einzigen sicheren Merkmale, um derartige Membranen als astrocytär zu identifizieren und von oligodendrocytären Membranen zu unterscheiden.

Die normalen intramembranen Partikel (IMP) auf der Astrocytenmembran haben einen Durchmesser von 4 - 16 nm. Die Dichte der Partikel auf der P-face beträgt auf Flächen, die an den interstitiellen Raum angrenzen, etwa 400 IMP/μm^2, während die Partikeldichte auf Flächen, die mit myelinisierten Fasern oder anderen Gliazellen Kontakt haben, doppelt so hoch sein kann (600 - 800 IMP/μm^2; Abb. 4a).

Abb. 3 Nervus opticus vom Goldfisch

a) Astrocytenfortsatz (➡) umgibt ein Bündel markhaltiger Axone. IF: intermediäre Filamente. 15 500 : 1

b) Ausschnitt aus Abb. 3a. EF_1: E-face eines Astrocyten der an den interstitiellen Raum (KF: kollagene Fasern) grenzt, EF_2: E-face eines zweiten Astrocyten (2), PF_3: P-face eines dritten Astrocyten (3), gj: gap junctions, tj: tight junctions, D: Desmosomen, Auf keiner der Astrocytenmembranen sind OPK zu finden 30 000 : 1

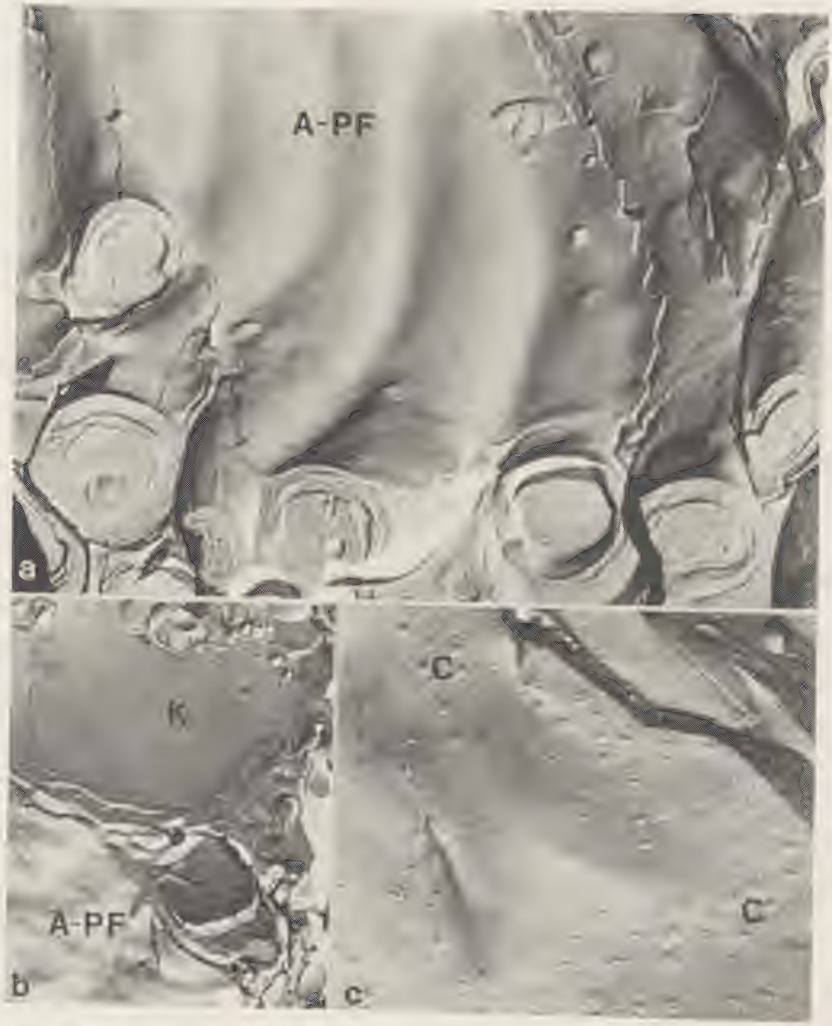


Abb. 4 Sehnerv eines Goldfisches

a) Astrocytenmembran (A-PF) im engen Kontakt mit markhaltigen Axonen. Die intramembranen Partikel sind gleichmäßig verteilt (ca. 610 IMP/μm^2); OPK fehlen. 31 000 : 1

b) Astrocytenendfüßchen (A-PF) an Kapillare (K). 9 000 : 1

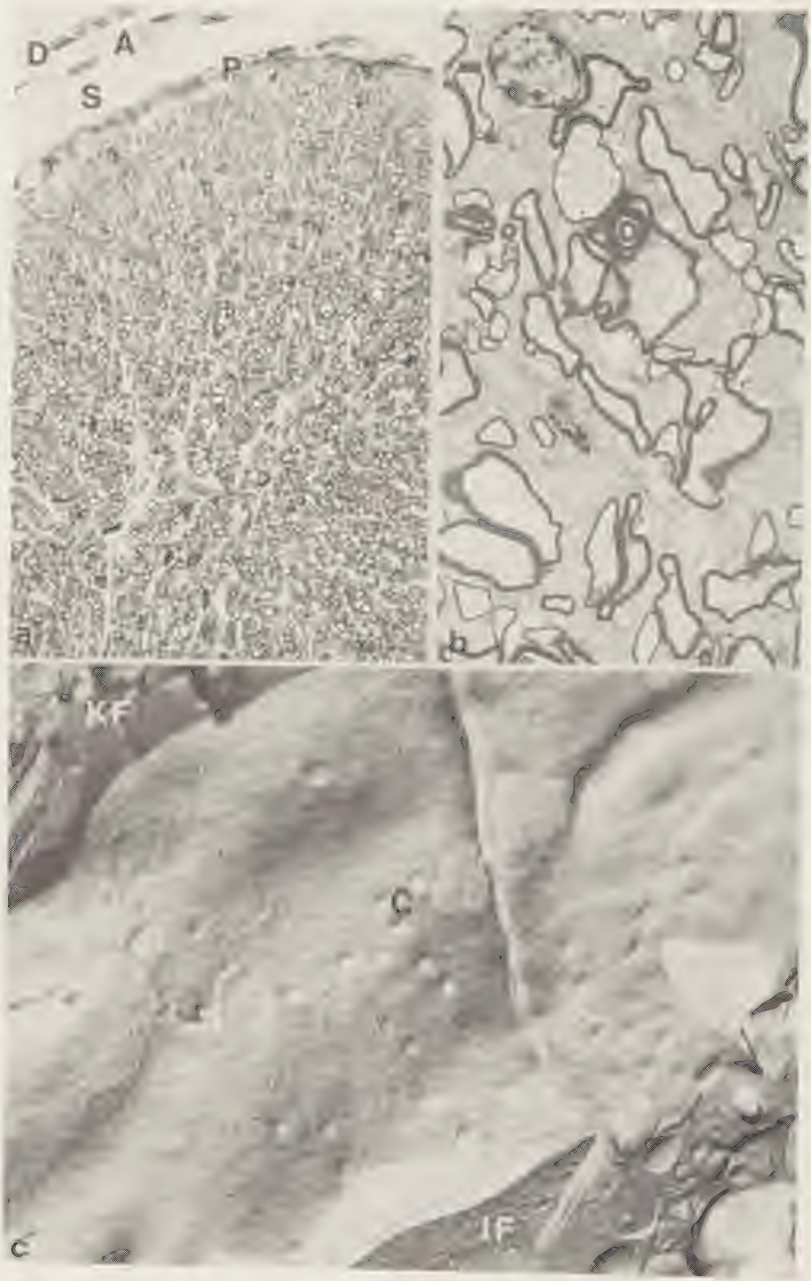
c) Ausschnitt aus Abb. 4b. Auf der Astrocytenmembran sind viele Caveolen (C) zu sehen aber keine OPK. 42 500 : 1

1.2. Amphibien

Der Sehnerv des Teichfrosches hat o,2 - o,5 mm Durchmesser und eine Querschnittsfläche von ca. o,1 mm^2 (Abb. 5a). Der Nervus opticus des Tigersalamanders hat o,25 - o,3 mm Durchmesser und eine Querschnittsfläche von ca. o,o5 mm^2. Beide Species zeigen im Sehnerv neben großen markhaltigen Nervenfasern (Durchmesser o,5 - 3 µm) eine Vielzahl kleiner markloser Axone (Durchmesser o,2 - o,5 µm). Das Verhältnis der markhaltigen zu den marklosen Fasern beträgt etwa 1 : 30 (Abb. 5b). Die Sehnerven sind durch dünne bindegewebige Septen unterteilt. Die Astrocyten kann man an den Gliafilamenten sowohl im Ultradünnschnitt als auch im Gefrierbruchbild von anderen Zellen unterscheiden. Auf der Astrocytenmembran sind nur selten Zwischenzellverbindungen zu sehen. Tight junctions und orthogonale Partikelkomplexe konnten nicht identifiziert werden (vgl. Diskussion IV.1.). Auch an Astrocytenmembranen, die an Kapillaren oder als Glia limitans an kollagenes Bindegewebe angrenzen, und die bei Säugetieren dicht mit OPK besetzt sind, konnten keine OPK gefunden werden (Abb. 5c). Caveolen sind dagegen, wie auch bei anderen Arten, auf der Astrocytenmembran vorhanden (Abb. 5c). An die Kapillaren im Nervus opticus des Frosches grenzen Astrocytenfortsätze, jedoch werden die Gefäße nicht vollständig von Astrocyten umgeben.

Abb. 5 (Seite 20) Sehnerv eines Teichfrosches

a) P: Pia mater; S: Subarachnoidealraum; A: Arachnotel; D: Dura mater. 450 : 1
b) Neben unterschiedlich großen markhaltigen Axonen sind viele kleine marklose Axone zu erkennen. Marklose Axone o,15 - o,4 µm, markhaltige Axone o,4 - 3,5 µm Durchmesser. 3 400 : 1
c) Astrocytenmembran der Glia limitans. Die intermediären Filamente (IF) im Cytoplasma und der Kontakt zu kollagenen Fasern (KF) sind der eindeutige Beweis für einen Astrocyten der Glia limitans. Auf der P-face des Astrocyten sind Caveolen (C) zu sehen aber keine orthogonalen Partikelkomplexe. 62 500 : 1


D
A
S
P
a
b
KF
C
IF
c

1.3. Reptilien

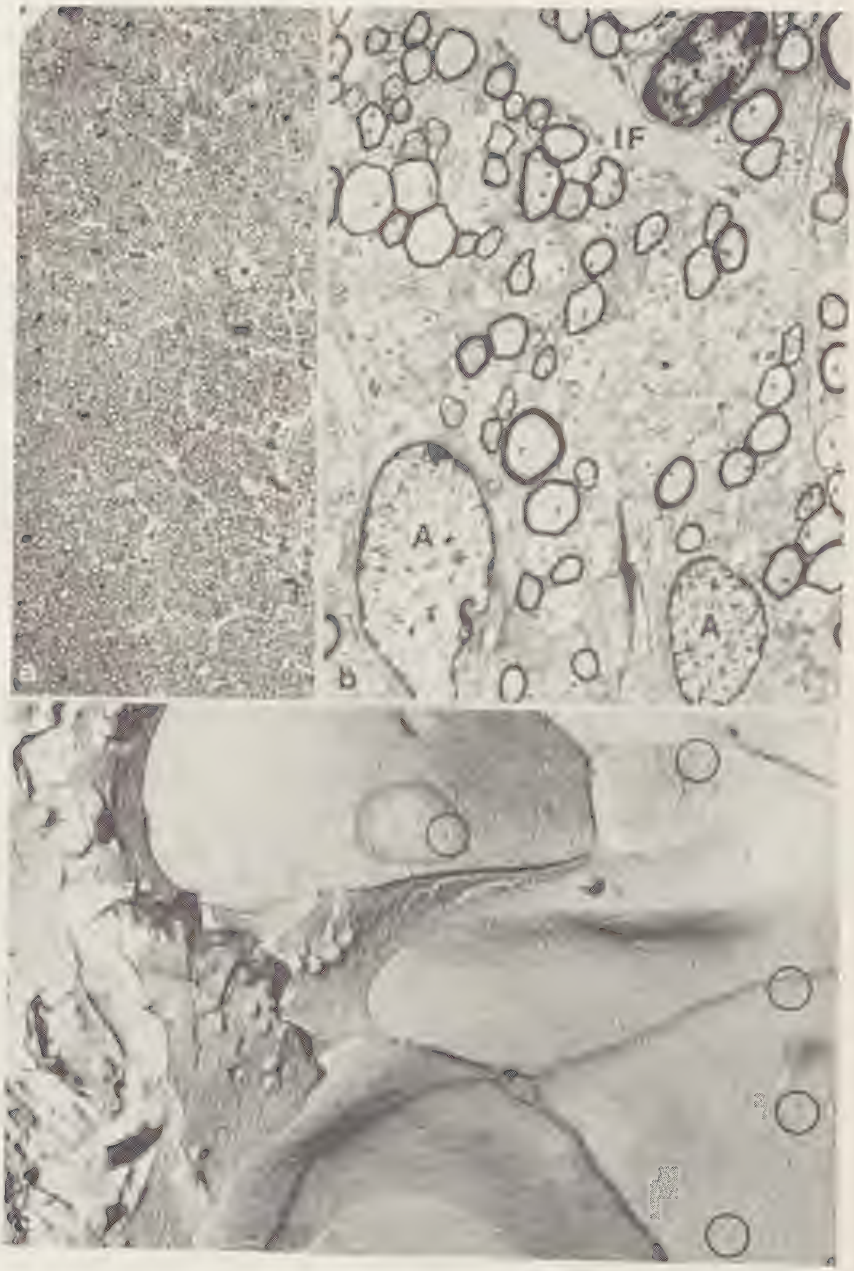
Die untersuchte Echsenart (Anolis chlorocyanus, Haitianolis) und die Dosenschildkröte (Terrapene carolina triunguis) haben einen ellipsenförmigen Sehnervquerschnitt von o,7 - 1,o mm Durchmesser . Der Sehnerv enthält, wie bei den Amphibien, große markhaltige Axone (o,5 - 2,3 µm Durchmesser) und viele kleine marklose Fasern (o,15 - o,5 µm Durchmesser) im Verhältnis 1 : 20 (Abb. 6b). Hier treten bei den untersuchten Species in der phylogenetischen Reihe zum ersten Mal orthogonale Partikelkomplexe auf der Astrocytenmembran auf (Abb. 11; Tabelle 1). Die Verteilung auf der Membranoberfläche ist relativ gleichmäßig (Abb. 6c). Die Dichte liegt mit durchschnittlich 15 OPK/μm^2 recht niedrig (Ratte : 121 OPK/μm^2). An Kapillaren und an der Glia limitans ist die Dichte der OPK nicht höher als an den Perikaryen der Astrocyten. Zwischenzellverbindungen auf der Astrocytenmembran sind selten, tight junctions fehlen.

Abb. 6 (Seite 22)

a) Sehnerv der Echse Anolis chlorocyanus. 450 : 1

b) Sehnerv der Dosenschildkröte
Marklose Axone o,15 - o,5 µm, markhaltige Axone o,5 - 2,3 µm Durchmesser. O: Oligodendrogliazellkern; A: Zellkern eines Astrocyten; IF: intermediäre Gliafilamente. 6 400 : 1

c) Gefrierätzreplika eines Astrocyten der Glia limitans im Nervus opticus einer Dosenschildkröte. Die P-face der Astrocytenmembran enthält orthogonale Partikelkomplexe ($\bigcirc_2$) in einer durchschnittlichen Dichte von 34 OPK/μm^2. 63 000 : 1


a
b
IF
A
A

1.4. Vögel

Die Sehnerven von Haustaube und Haushuhn sind ähnlich aufgebaut. Der Durchmesser des N.opticus bei der Taube beträgt ca. 2 mm, beim Huhn 2,5 - 3,5 mm. Fast alle Fasern sind, wie bei Säugetieren, markhaltig (Abb. 7b). Der Durchmesser der Axone schwankt zwischen o,23 und 3,7 µm. Die Astrocyten tragen die charakteristischen OPK (Abb. 7c). Diese sind wie auch bei den Ratten ungleichmäßig verteilt. Es lassen sich immer wieder Abschnitte von Astrocytenmembranen finden (identifizierbar an den intermediären Gliafilamenten), die keine orthogonalen Partikelkomplexe aufweisen. Bei Membranen, die OPK tragen, schwankt die Dichte zwischen 9 und 427 OPK/μm^2. Der Mittelwert liegt bei 116 OPK/μm^2 (Abb. 11). Eine eindeutige Zuordnung der hohen bzw. geringen Dichten zu bestimmten Regionen oder Kontaktstellen, z.B. Glia limitans oder Endfüßchen an Kapillare (perivaskuläre Lage) war unmöglich. Es wurden z.B. auch Astrocytenmembranen gefunden, die an Kollagen grenzen und damit als Glia limitans zu identifizieren sind und dennoch eine geringe Dichte von OPK haben.

Abb. 7 (Seite 24) Sehnerv einer Haustaube

a) Lichtmikroskopische Übersichtsaufnahme 180 : 1
b) Elektronenmikroskopischer Ausschnitt. Alle Axone sind bemarkt, Durchmesser ohne Myelinscheide o,23 - 3,7 µm. A: Zellkerne von Astrocyten; O: Zellkerne von Oligodendrocyten. 4 700 : 1
c) Gefrierbruch einer Astrocytenmembran. Die P-face dieses Astrocyten enthält orthogonale Partikelkomplexe in einer durchschnittlichen Dichte von 127 OPK/μm^2. IF: intermediäre Filamente im Cytoplasma des Astrocyten. 94 500 : 1

a
b
A
IF

1.5. Säugetiere

1.5.1. Ontogenese

Nach 21 - 30 Tagen Tragzeit kommen Ratten mit verschlossenen Augenlidern zur Welt. Am 15. Tag der Gestation (15. Ontogenesetag) erreichen die optischen Axone das Chiasma opticum (Lund and Bunt, 1976). Am 17. Ontogenesetag (Abb. 9a) kann man auf Gliazellausläufern, die an Kapillaren grenzen, gap junctions erkennen (Abb. 9b, c) jedoch sind diese Zellen noch nicht als Astrocyten ausdifferenziert (Vaughn and Peters, 1967). Im Cytoplasma sind noch keine intermediären Gliafilamente zu erkennen. In der ersten Lebenswoche besteht der Sehnerv aus unreifen Gliazellen und vielen dünnen marklosen Axonen (Abb. 10a). Die Myelinisierung der optischen Axone beginnt um den 6. Lebenstag postnatal. Die Augen werden zwischen dem 13. und 16. Lebenstag geöffnet. Die ersten orthogonalen Partikelkomplexe auf Astrocytenmembranen konnten bei 4 Tage alten Ratten nachgewiesen werden (Abb. 10b). Die OPK-Dichte ist zu diesem Zeitpunkt mit durchschnittlich 46 OPK/μm^2 relativ niedrig, sie steigt aber schnell auf den Wert adulter Tiere an. Bereits am 10. Lebenstag schwanken die Werte zwischen 9 und 225 OPK/μm^2 (Mittelwert: 88 OPK/μm^2; Abb. 8; Tabelle 1).

1.5.2. Adulte Ratten

Mit ca. 50 Tagen werden die Ratten geschlechtsreif. Zu diesem Zeitpunkt sind praktisch alle optischen Axone myelinisiert (Abb. 12c, d). Der Sehnerv hat einen Durchmesser von o,5 - o,7 mm. Der Durchmesser der markhaltigen Axone schwankt zwischen o,6 und 6 µm (Abb. 12d). Unterteilt wird der Sehnerv der Ratte durch gliöse Septen (Abb. 12a, c). Im Querschnitt sind meist mehr Oligodendrocytenkerne als Kerne von Astrocyten zu sehen. Letztere haben aber viel mehr und größere Fortsätze als die Oligodendrocyten.

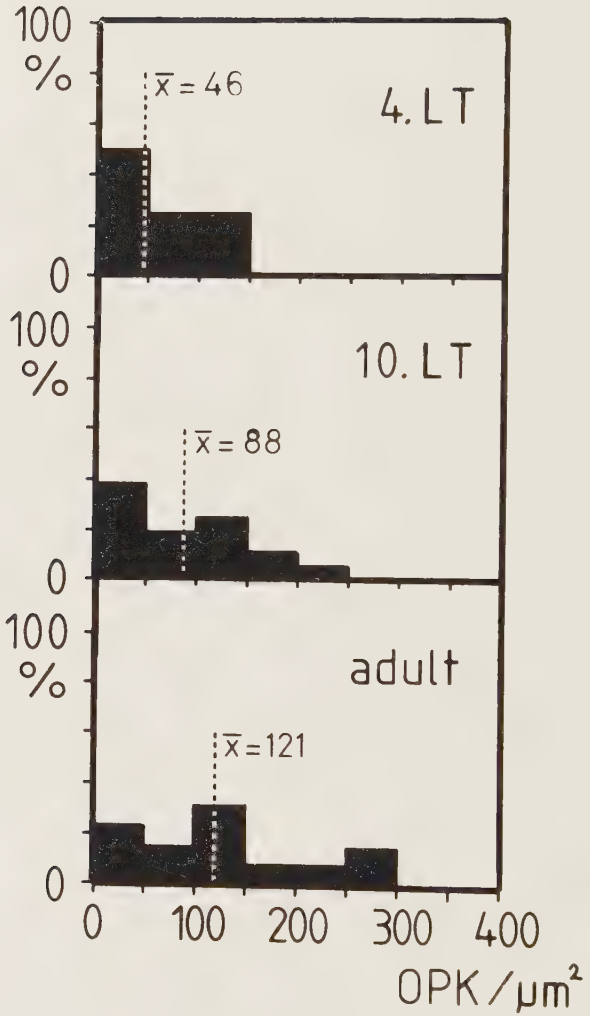


Abb. 8 Zunahme der Dichte der orthogonalen Partikelkomplexe auf der Astrocytenmembran während der Ontogenese der Ratte

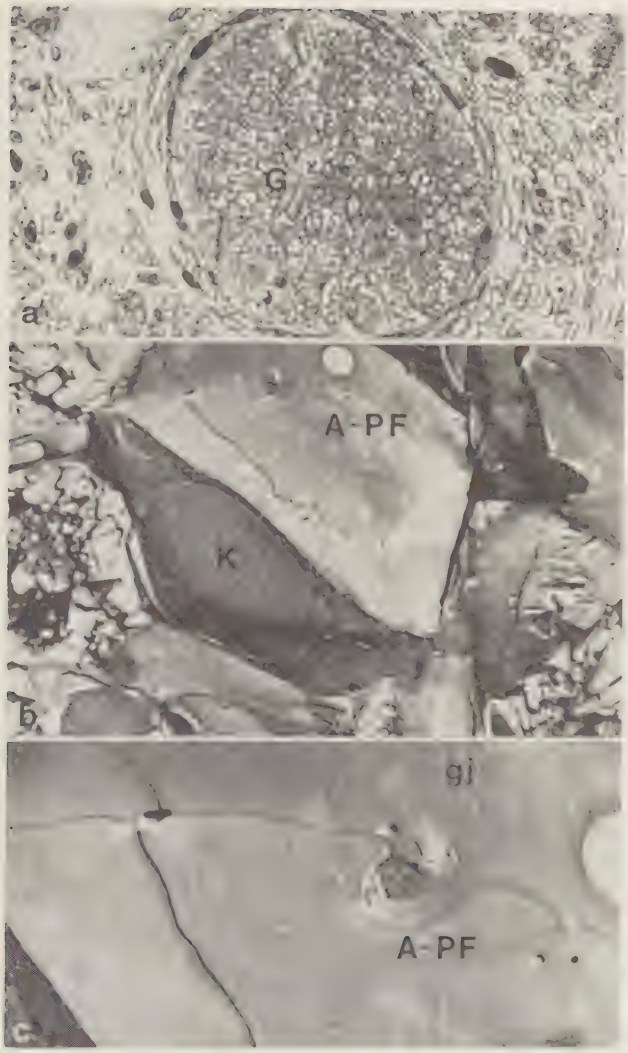


Abb. 9 Sehnerv der Ratte am 17.Ontogenesetag

a) Durchmesser o,15 mm; G: Zellkerne unreifer Gliazellen 450 : 1
b) Zwischen Bündeln markloser Axone (Ax) befindet sich eine Kapillare (K). A-PF: P-face der Membran eines Astrocytenendfüßchens. 8 000 : 1
c) Ausschnitt aus der Astrocytenmembran (A-PF) aus Abb. 9b. gj: gap junction; keine OPK; 24 000 : 1

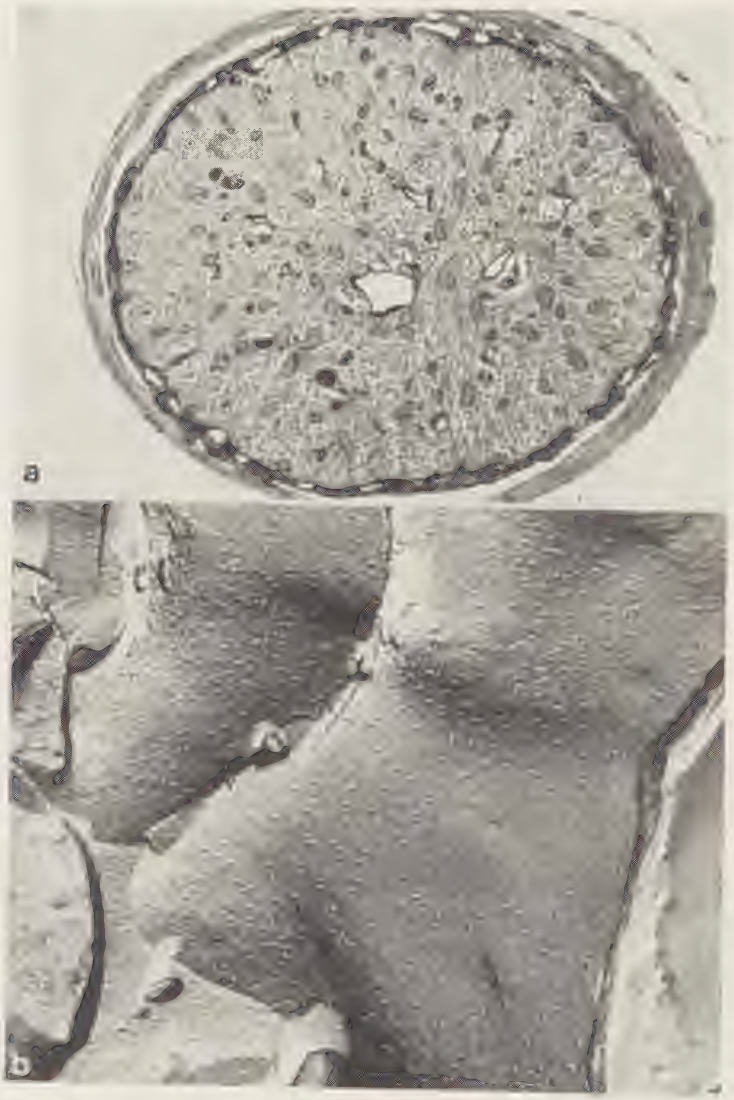


Abb. 10 Sehnerv der Ratte am 4.Lebenstag

a) Durchmesser o,25 mm; 450 : 1
b) P-face einer Astrocytenmembran mit orthogonalen Partikelkomplexen (102 OPK/μm^2). 75 000 : 1

Die perikaryennahen Zellfortsätze der Astrocyten enthalten relativ wenig, die kernfernen Fortsätze viele Filamente. Die Kapillaren sind stets lückenlos von Astrocytenfortsätzen umgeben (Abb. 12c). An den Grenzflächen zwischen zwei Astrocytenfortsätzen gibt es z.T. Zonulae occludentes. Im Gefrierbruchbild sieht man auf der Astrocytenmembran die charakteristischen orthogonalen Partikelkomplexe. Die Dichte schwankt zwischen 8 und 283 OPK/μm^2 (Mittelwert: 121 OPK/μm^2; Tabelle 1). Die Dichte der OPK ist normalerweise auf Membranen der Glia limitans, d.h. auf Astrocyten, die an kollagenes Bindegewebe grenzen, und an perivaskulären Astrocytenendfüßchen (Abb. 13a, b) deutlich höher als in der perikaryalen Astrocytenmembran (Abb. 13c). Da sich die Lage einer Astrocytenmembran oft nicht eindeutig klären läßt und die bestimmten OPK-Dichten gleichmäßig über den gesamten Bereich verteilt sind, würde sich eine Grenze zwischen perikaryalen und perivaskulären OPK-Dichten nur willkürlich legen lassen (vgl. Diskussion IV.1.). Außerdem kann man auch bei Säugetieren gelegentlich Astrocytenmembranen finden auf denen keine OPK zu finden sind, die aber an den Gliafilamenten im Cytoplasma eindeutig als Astrocyten zu identifizieren sind. Da auf der E-face der Astrocytenmembran die orthogonalen Partikelkomplexe z.T. nur schwach als kleine Vertiefungen zu erkennen sind (Abb. 13c), wurde für die Auszählung der OPK-Dichten nur die P-face verwendet. Auf der P-face erscheinen die Partikel der OPK als kleine Hügel (Abb. 13c). Einzelne Partikel der OPK haben einen Durchmesser von 5 nm, während die Partikel, aus denen die gap junctions aufgebaut sind, einen Durchmesser von 8 nm haben. Die OPK bestehen aus 6 bis 30 Partikeln, die zu rechteckigen Formen zusammengelagert sind.

Gap junctions kommen auf der Astrocytenmembran im Ratten-Sehnerv vor, sie sind aber seltener als auf den Astrocyten des Goldfisches. Die Größe der gap junctions schwankt zwischen 50 und 400 nm, womit sie im Durchschnitt auch nur etwa halb so groß sind wie die des Goldfisches. Tight junctions fehlen bei den Säugetierastrocyten.

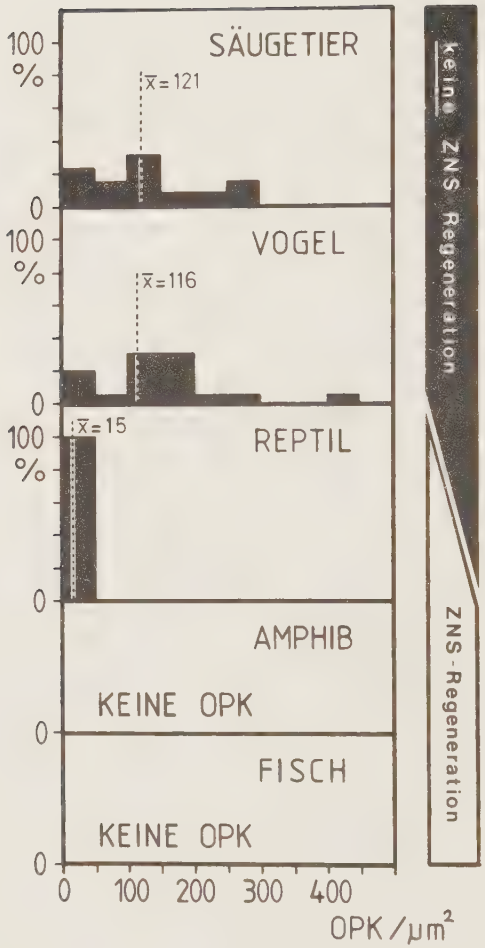


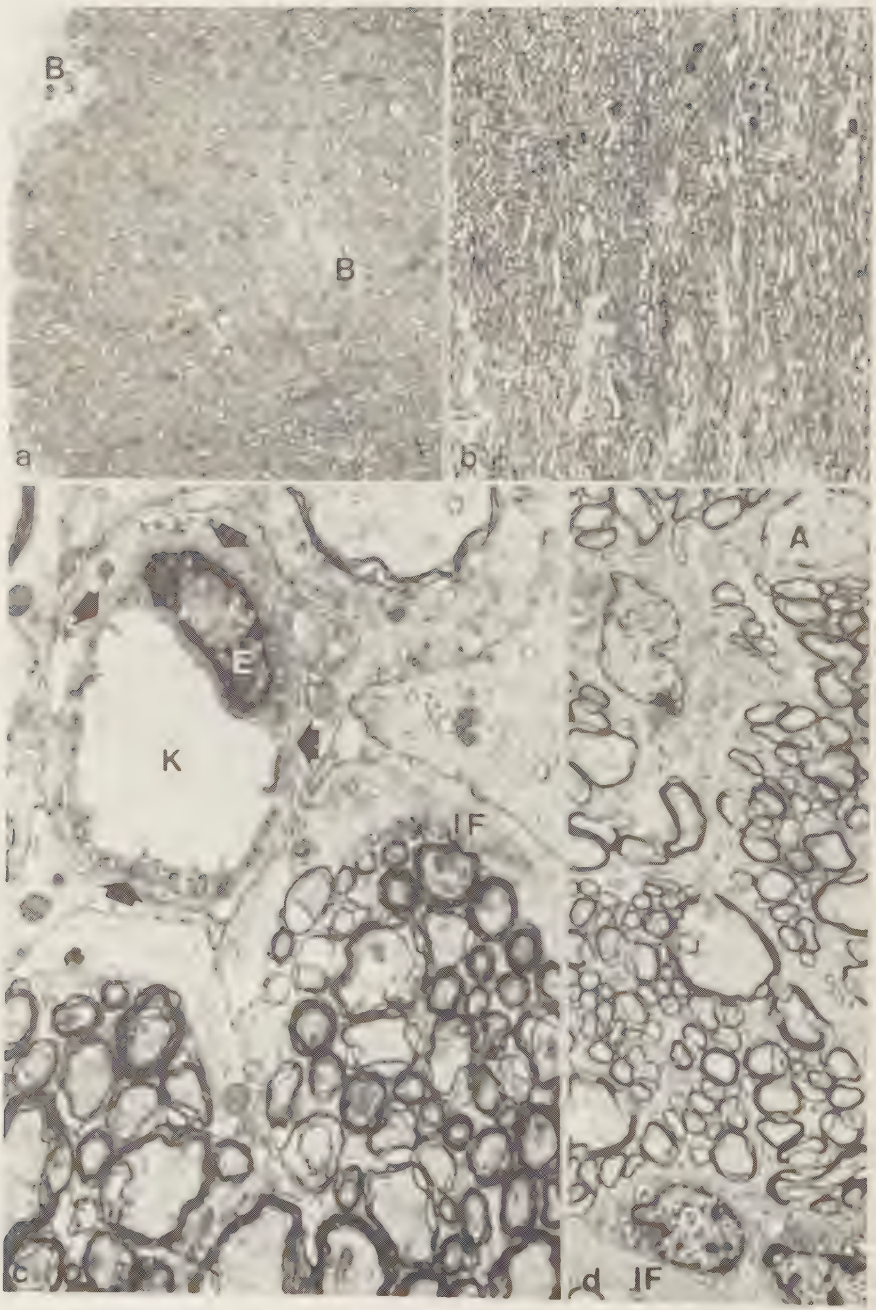
Abb. 11 Entwicklung der OPK-Dichte auf Astrocytenmembranen im ZNS im Vergleich mit der Regenerationsfähigkeit des ZNS in einer phylogenetischen Reihe. Während beim Frosch und Goldfisch auf der Astrocytenmembran keine OPK zu finden sind, existieren solche im ZNS von Reptilien, Vögeln und Säugetieren.

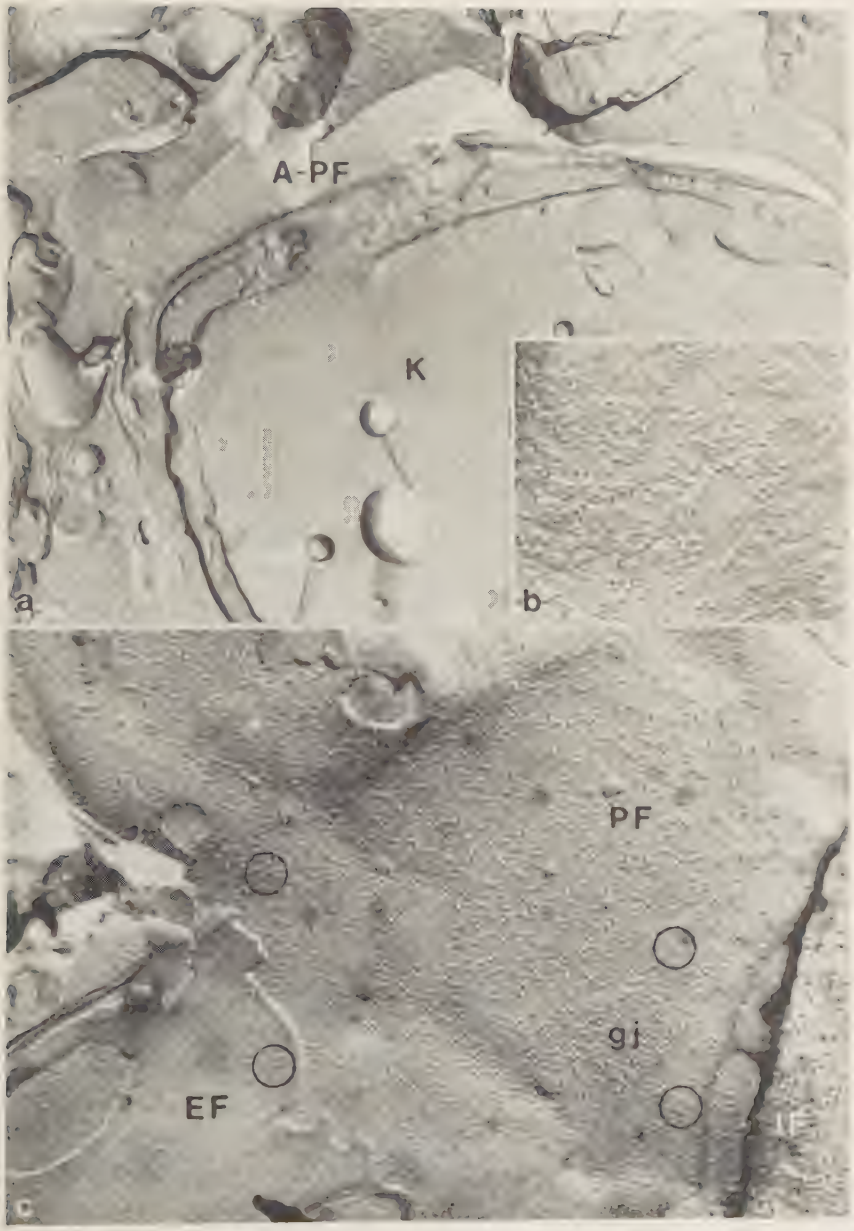
Abb. 12 (Seite 32) Sehnerv einer adulten Ratte

a) Querschnitt; B: Blutgefäße 450 : 1
b) Längsschnitt; 450 : 1
c) Kapillaren (K) im N.opticus der Ratte werden lückenlos von Astrocytenfortsätzen umgeben.
E: Zellkern der Endothelzelle;
Pfeile (➧): Basalmembran um Endothelzelle
IF: intermediäre Filamente in Astrocytenfortsätzen. 9 400 : 1
d) Alle Axone sind markhaltig; Durchmesser: o,6 bis 6 µm.
A: Zellkern eines Astrocyten
O: Zellkern eines Oligodendrocyten
IF: intermediäre Gliafilamente in einem Astrocytenfortsatz. 4 000 : 1

Abb. 13 (Seite 33) Sehnerv einer adulten Ratte

a) An die Kapillare (K) grenzt ein Endfüßchen eines Astrocytenfortsatzes (A-PF). 25 000 : 1
b) Ausschnitt aus der perivaskulären Astrocytenmembran in Abb. 13a. Die Dichte der orthogonalen Partikelkomplexe ist hier höher (275 OPK/μm^2) als auf perikaryalen Astrocytenmembranen (Abb. 13c). 120 000 : 1
c) Auf perikaryalen Astrocytenmembranen ist die Dichte der orthogonalen Partikelkomplexe niedriger (25 OPK/μm^2) als auf Membranen der Glia limitans oder perivaskulären Astrocytenmembranen (Abb. 13b).
PF: P-face einer Astrocytenmembran mit OPK (Kreise)
EF: E-face einer Astrocytenmembran mit OPK (Kreise)
IF: intermediäre Filamente
gj: gap junction
70 000 : 1


B
B
a
b
E
K
IF
c
A
d
IF


A-PF
K
a
b
PF
gj
EF
c

2. Reaktion der Astrocyten auf Läsion des Nervus opticus

Die Reaktion der Astrocyten auf Läsionen des ZNS ist bei verschiedenen Wirbeltierarten unterschiedlich. Bei Niederen Wirbeltieren kommt es nach einer Verletzung des ZNS zur Proliferation der Astrocyten, die "Tunnelstrukturen" bilden um damit die wiederauswachsenden Axonregenerate zu deren Zielgebieten zu leiten (siehe Diskussion). Bei Höheren Wirbeltieren kommt es ebenfalls zur Proliferation der Astrocyten bzw. Astrocytenfortsätze, diese bilden aber ein dichtes Netzwerk, das für die aussprossenden Axonregenerate eine undurchdringliche Barriere bildet (siehe Diskussion). Die Untersuchungen und Experimente dieser Arbeit richteten sich daher vorwiegend auf Unterschiede der Membran- und Ultrastruktur von Astrocyten verschiedener Wirbeltierarten im normalen, degenerierenden und regenerierenden Nervus opticus.

2.1. Fische

2.1.1. Degeneration

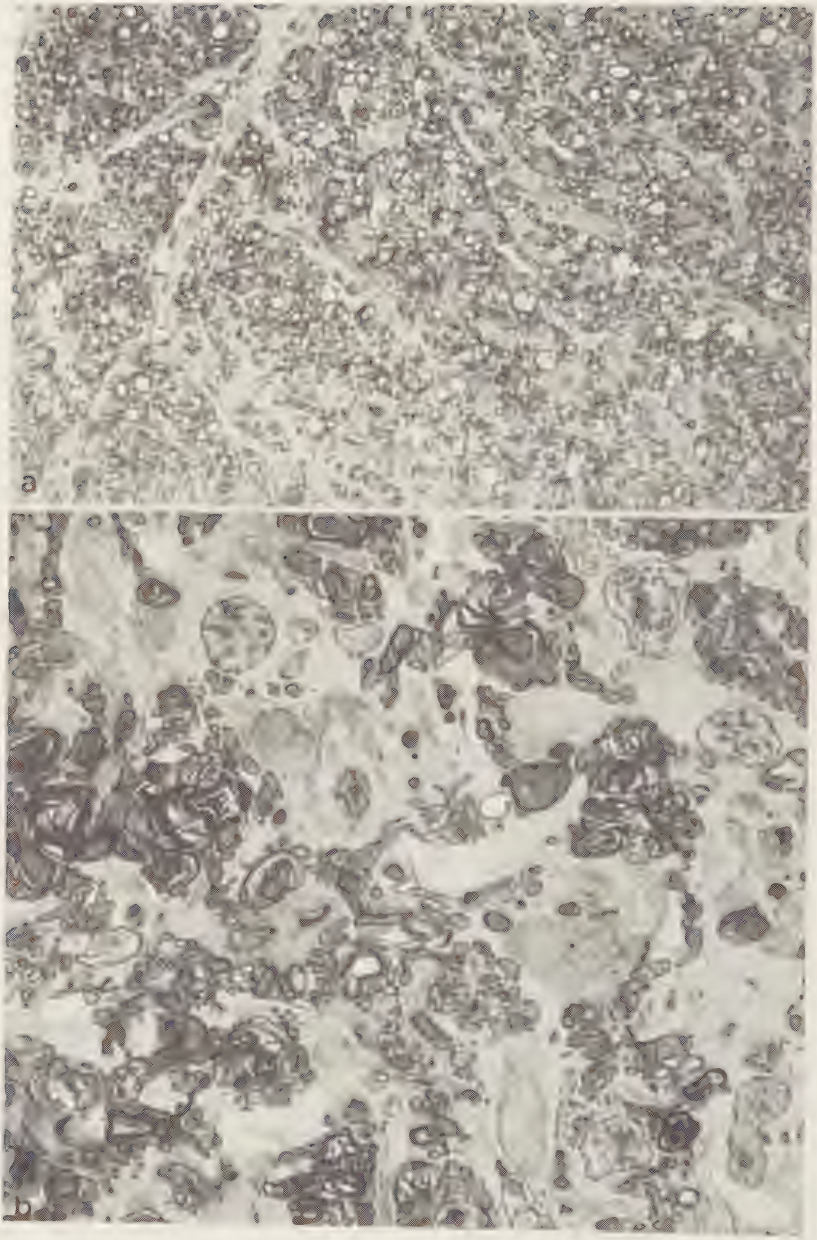
Bei der angewandten Operationsmethode, der Quetschung des Sehnerven unmittelbar nach seinem Austritt aus dem Bulbus oculi, kommt es zur sekundären Faserdegeneration aller optischer Axone (Abb. 14a), deren Perikaryen in der Ganglienzellschicht der Retina liegen. In der Retina bleibt die Blutversorgung soweit erhalten, daß es nicht zu einer ischämischen Nekrobiose - wie bei der Ratte - kommt. Die Axone im cerebralen Abschnitt des gequetschten Nervus opticus verdichten sich und erscheinen im elektronenmikroskopischen Bild dunkler als ungeschädigte Axone. Die Markmäntel verformen sich und werden aufgespalten, es werden Lamellenpakete abgeschnürt (Markballen), die z.T. auch noch verdichtetes Axoplasma enthalten können (Abb. 14b). Die Astrocyten proliferieren und phagocytieren Markballen, d.h. sie werden zu

Myelophagen. Außerdem können Leukocyten aus dem Blut ins Gewebe einwandern und zu Makrophagen werden. Die lamelläre Struktur der Markmäntel kann auch nach der Phagocytose noch lange erhalten bleiben. Schließlich bleiben von den phagocytierten Markmantelanteilen nur noch osmophile, d.h. dunkle Lipidtropfen übrig, die auch noch nach erfolgter Regeneration, d.h. nach der Wiedererlangung des Sehvermögens (ca. 30 Tage nach Quetschung der Sehnerven) zu erkennen sind (Abb. 17a).

Abb. 14 (Seite 36)

a) Nervus opticus einer Karausche 12 Tage nach retrobulbärer Quetschung. Fisch war zum Zeitpunkt der Präparation blind. 450 : 1

b) Nervus opticus einer Karausche 15 Tage nach Beginn der Degeneration; Fisch war zu diesem Zeitpunkt blind. Wallersche Degeneration mit Zerfall und Abbau von Myelinscheiden und Proliferation der Gliazellen. Noch vorhandene Axone sind verdichtet und erscheinen dunkler als ungeschädigte Axone. 3 000 : 1


a
b

2.1.2. Regeneration

Nach einer Latenzzeit von 5 Tagen wachsen aus den Faserstümpfen neue Axonregenerate aus (McQuarrie and Grafstein, 1981). Diese Axonregenerate treffen im degenerierenden cerebralen Abschnitt des gequetschten N.opticus auf die proliferierenden Astrocytenfortsätze. Von diesen Fortsätzen werden Faszikel von vorwiegend noch marklosen Axonregeneraten umschlossen (Abb. 17b,c). Zwischen den Faszikeln sind innerhalb und außerhalb von Makrophagen die Markabbauprodukte zu sehen (Abb. 17a). Auffällig ist in diesem Stadium (25 - 50 Tage nach Quetschung) die Kontaktzone zwischen den marklosen Axonregeneraten und den faszikelbildenden Astrocytenfortsätzen. Der Kontakt zwischen Astrocytenmembran und Axon kann eng sein, so daß die Astrocytenmembran entsprechend dem Verlauf der Axone gewellt erscheint und Berge und Täler aufweist (Abb. 16b), oder sie kann mit größerem Abstand glatt über den Axonregeneraten liegen (Abb. 16a). Bemerkenswert ist nun, daß in diesen beiden Fällen auch die Verteilung der intramembranen Partikel (IMP) in der Astrocytenmembran unterschiedlich ist. Liegt die Astrocytenmembran glatt über den Axonen, so ist die Partikelverteilung gleichmäßig, die Dichte liegt bei ca. 650 IMP/μm^2. Ist die Astrocytenmembran gewellt und damit der Kontakt zwischen Astrocyt und Axonregeneraten enger, so ist die Partikeldichte auf den "Bergen" der Astrocyten P-face um fast 200 % höher als in den "Tälern" (Abb. 15). In den Tälern liegt die durchschnittliche Dichte bei 300 IMP/μm^2, auf den Bergen bei 900 IMP/μm^2. Auch im unbehandelten Sehnerven gibt es Stellen mit engem Kontakt zwischen Astrocyt und bemarkten Axonen, so daß ebenfalls die Oberfläche des Astrocyten wellenförmig verformt ist (Abb. 4a). Hier liegt die Partikeldichte auf den Bergen aber nur um etwa 20 % höher als in den Tälern (Tal ca. 600 IMP/μm^2; Berg ca. 750 IMP/μm^2). Die Erscheinung, auf einer wellenförmigen Astrocytenmembran die Partikeldichte auf den Bergen dreimal so hoch vorzufinden wie in den Tälern, tritt nur während des Auswachsens der Axonregenerate bis zur beginnenden Myelinisierung der neuen Fasern

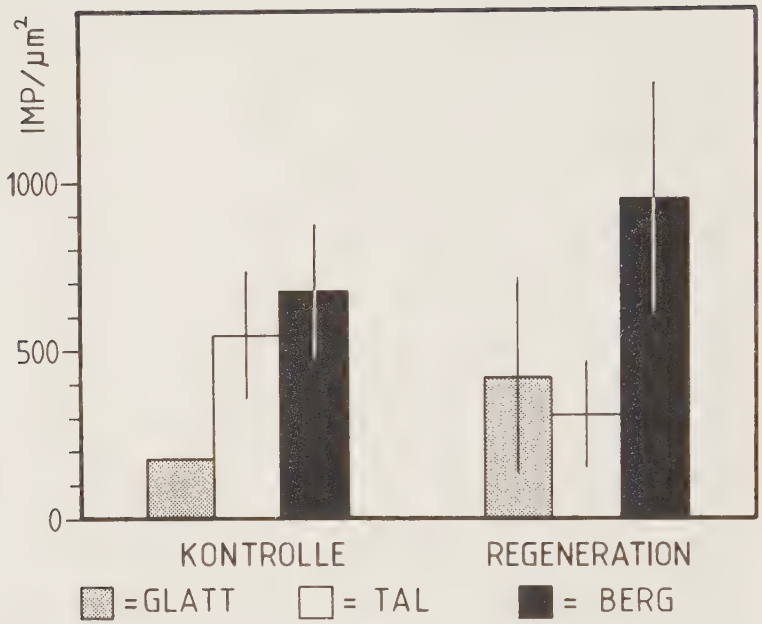


Abb. 15 Verteilung der intramembranen Partikel auf wellenförmig verformten und glatten Astrocytenmembranen mit Kontakt zu Axonen bei unbehandelten Fischen (Kontrolle) und 28, 34 und 70 Tage nach Sehnervquetschung (Regeneration).

auf. Die Myelinisierung der Regenerate beginnt erst nach der Wiedererlangung des Sehvermögens. Der Tag des ersten Sehens ist durchschnittlich 33 Tage nach Sehnervquetschung, die ersten Myelinscheiden um Axonregenerate traten 55 Tage nach Quetschung (22 Tage nach dem ersten Sehen) auf (Kästner and Wolburg, 1982). Nach erfolgter Remyelinisierung der Axonregenerate sind die Partikel auf wellenförmig verformten Astrocytenmembranen wieder annähernd gleich verteilt (ca. 600 IMP/μm^2).

Auch diesen reaktiven Astrocyten fehlen in allen Stadien der De- bzw. Regeneration die orthogonalen Partikelkomplexe (Abb. 18a,b; 20a).

Abb. 16 (Seite 40)

a) Sehnerv eines Goldfisches 26 Tage nach retrobulbärer Quetschung, kurz vor der Wiedererlangung des Sehvermögens. Die marklosen Axonregenerate (Ax-R) sind bedeckt von einer glatten Astrocytenmembran (A-EF). Die intramembranen Partikel sind gleichmäßig verteilt.
C: Caveolen ; IF: intermediäre Filamente im Cytoplasma des Astrocyten. 28 000 : 1

b) Sehnerv eines Goldfisches 34 Tage nach Quetschung (6 Tage nach Wiedererlangung des Sehvermögens). Die P-face des Astrocyten (A-PF) ist entsprechend dem Verlauf der marklosen Axonregenerate (Ax-R) wellenförmig verformt. Die IMP sind ungleich verteilt. Die Dichte liegt in den Tälern bei durchschnittlich 550 IMP/μm^2, auf den Bergen bei 1460 IMP/μm^2.
Auf keiner der Astrocytenmembranen sind OPK zu sehen. IF: intermediäre Filamente;
A-EF: E-face eines zweiten Astrocyten; C: Caveolen; Ax-EF: Membranbruchstücke der marklosen Axonregenerate. 42 000 : 1

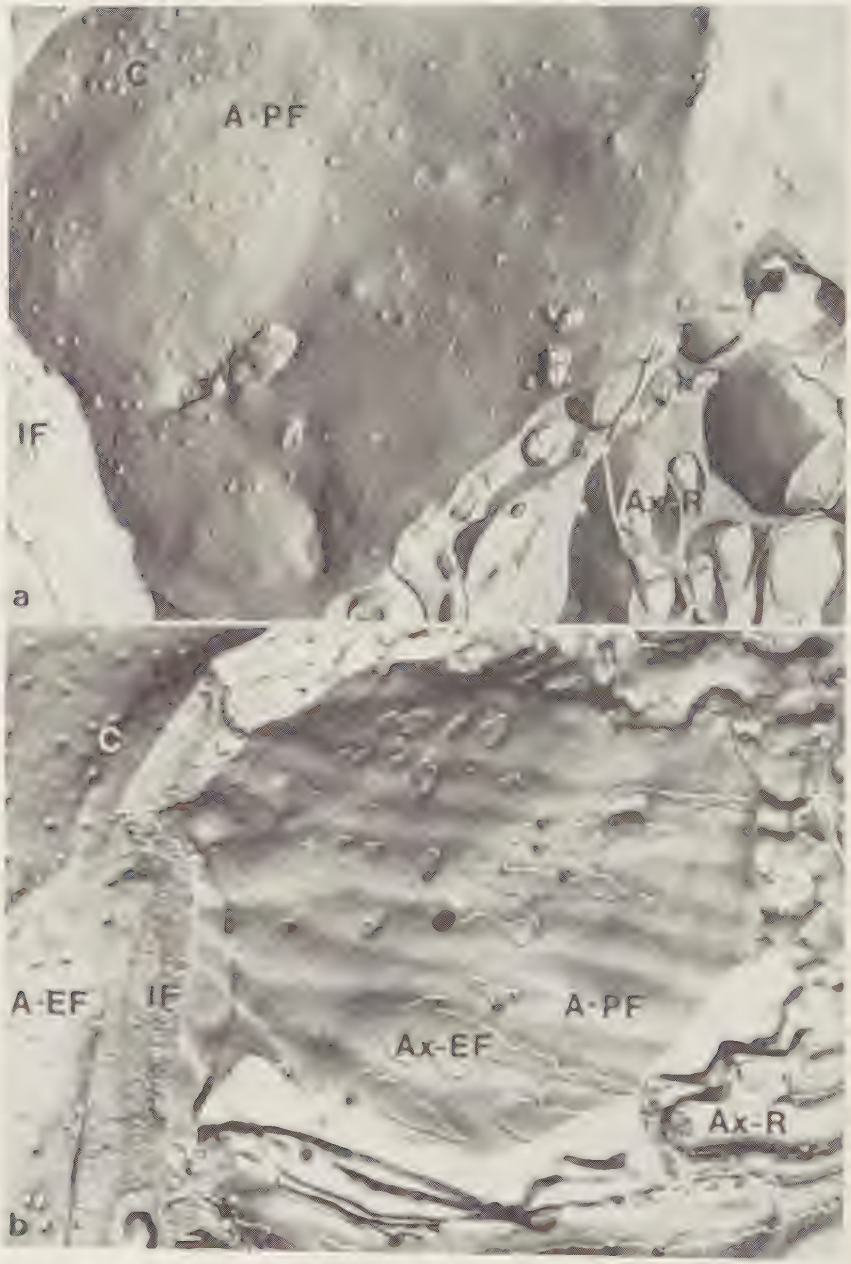

C
A-PF
IF
Ax-R
a
C
A-EF
IF
A-PF
Ax-EF
Ax-R
b

Abb. 17 (Seite 42)

a) Nervus opticus des Goldfisches 55 Tage nach retrobulbärer Quetschung (10 Tage nach Wiedererlangung des Sehvermögens). Viele große und kleine Kanäle aus Gliazellfortsätzen,die Bündel markloser Axonregenerate umgeben. Außerhalb der Faszikel sind von der vorausgegangenen Degeneration Vakuolen als Endosomen von Makrophagen zu sehen (M). 1 100 : 1

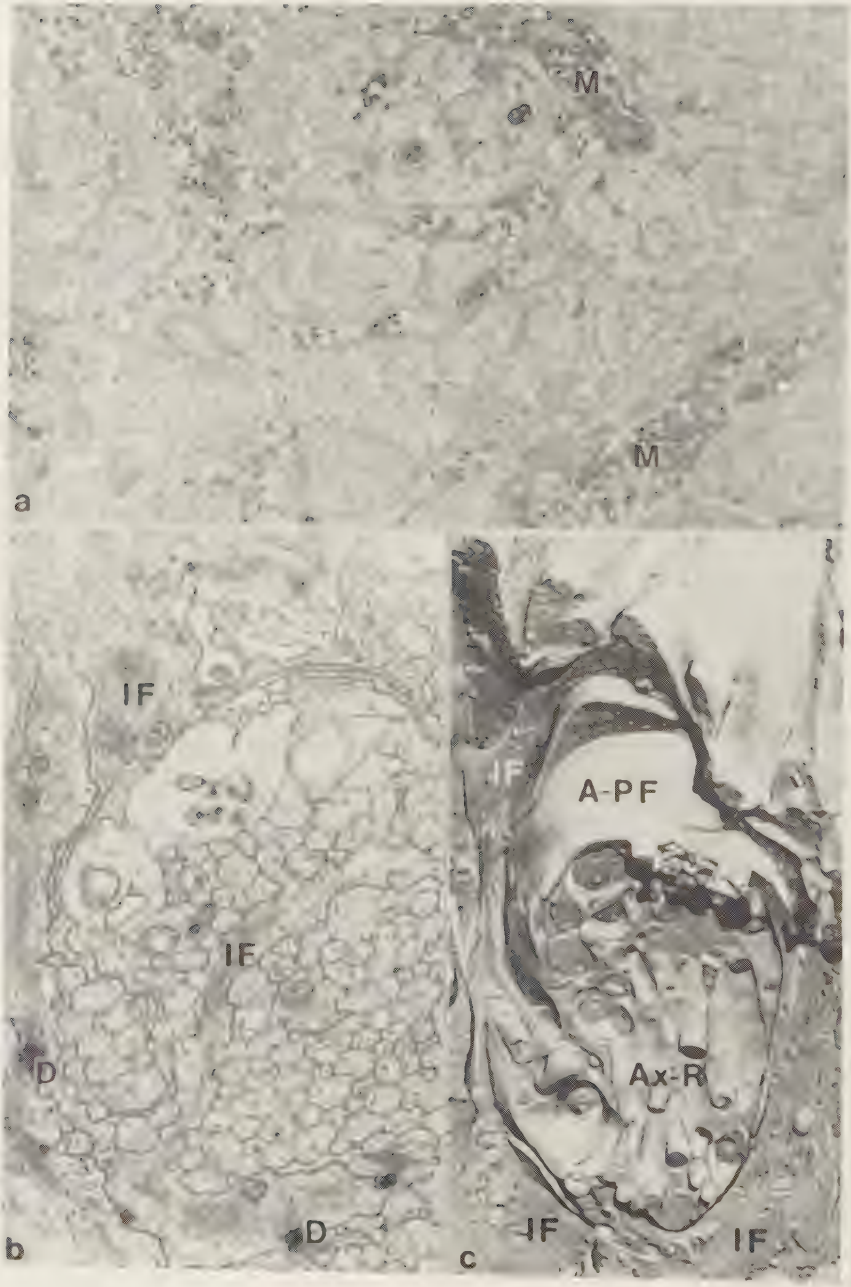
b) Detail aus Abb. 17a. Ein Bündel markloser Axonregenerate wird eng von dünnen Astrocytenfortsätzen umschlossen. IF : intermediäre Filamente in den Astrocytenfortsätzen; D: Desmosomen zwischen Astrocytenfortsätzen. 18 000 : 1

c) Nervus opticus des Goldfisches 26 Tage nach Quetschung. Ein Bündel markloser Axonregenerate (Ax-R) wird von mehreren Astrocytenfortsätzen eng umschlossen. IF: intermediäre Filamente; A-PF: P-face eines faszikelbildenden Astrocytenfortsatzes. 14 500 : 1

Abb. 18 (Seite 43)

a) Sehnerv einer Karausche 71 Tage nach Läsion. Der Fisch kann wieder sehen. P-face einer Astrocytenmembran mit tight junctions (tj), gap junctions (gj) und Desmosomen (D). Orthogonale Partikelkomplexe fehlen. IF: intermediäre Filamente. 62 500 : 1

b) Sehnerv einer Karausche 123 Tage nach Quetschung. Die Regeneration ist abgeschlossen, die Axonregenerate sind zum größten Teil wieder bemarkt. Der regenerierte Sehnerv ist stärker durch Faszikel unterteilt als der unbehandelte Sehnerv (Abb. 1a). Von der Degeneration und dem Myelinabbau sind noch dunkle Vakuolen zu sehen. 450 : 1


M
M
a
IF
IF
D
D
b
IF
A-PF
Ax-R
IF
IF
c

gi
D
IF
a
b

2.2. Vögel

Bei der Degeneration des Sehnerven eines Huhnes (Abb. 20a,b) zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei der Degeneration des Nervus opticus eines Säugetieres. Untersucht wurde bei den Vögeln nur ein Stadium: Der Sehnerv eines Huhnes 39 Tage nach Enukleation eines Auges. Die Enukleation wurde gewählt, weil bei einer heftigen Quetschung des Nervus opticus dicht hinter dem Bulbus oculi durch die Unterbrechung der Blutzufuhr der gesamte Augapfel nekrotisch wird und es leicht zu Entzündungen kommt. Bei der Enukleation traten dagegen keine Entzündungen auf.

39 Tage nach der Enukleation ist die Degeneration bereits in einem fortgeschrittenen Stadium. Die Axone haben sich verdichtet und sind elektronendicht geworden (Wallersche Faserdegeneration). Die Markscheiden haben sich aufgespalten bzw. Markballen abgespalten. Die lamelläre Struktur des Myelins bleibt z.T. lange erhalten (Abb. 20c). Die Astrocyten haben lange filamentreiche Fortsätze gebildet, die den durch die sekundäre Faserdegeneration und den Markabbau freiwerdenden Raum ausfüllen (Abb. 20b). Die orthogonalen Partikelkomplexe sind auf den Membranen der proliferierten Astrocyten ungleich verteilt; die Dichte reicht von 7 bis 325 OPK/μm^2. Auf einem einzigen Stück Astrocytenoberfläche kann die Dichte der OPK ungleichmäßig sein (Abb. 20d). Die druchschnittliche Dichte der orthogonalen Partikelkomplexe auf Astrocytenmembranen im degenerierten Sehnerv des Huhnes liegt mit 94 OPK/μm^2 unter dem Mittelwert der OPK-Dichte im unbehandelten Sehnerv (Abb. 19; Tabelle 1).

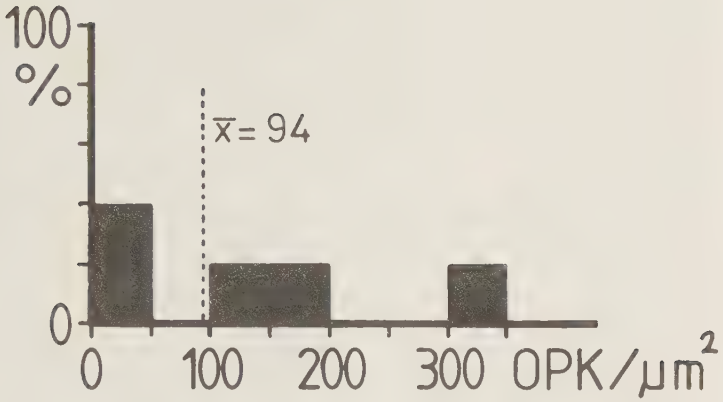
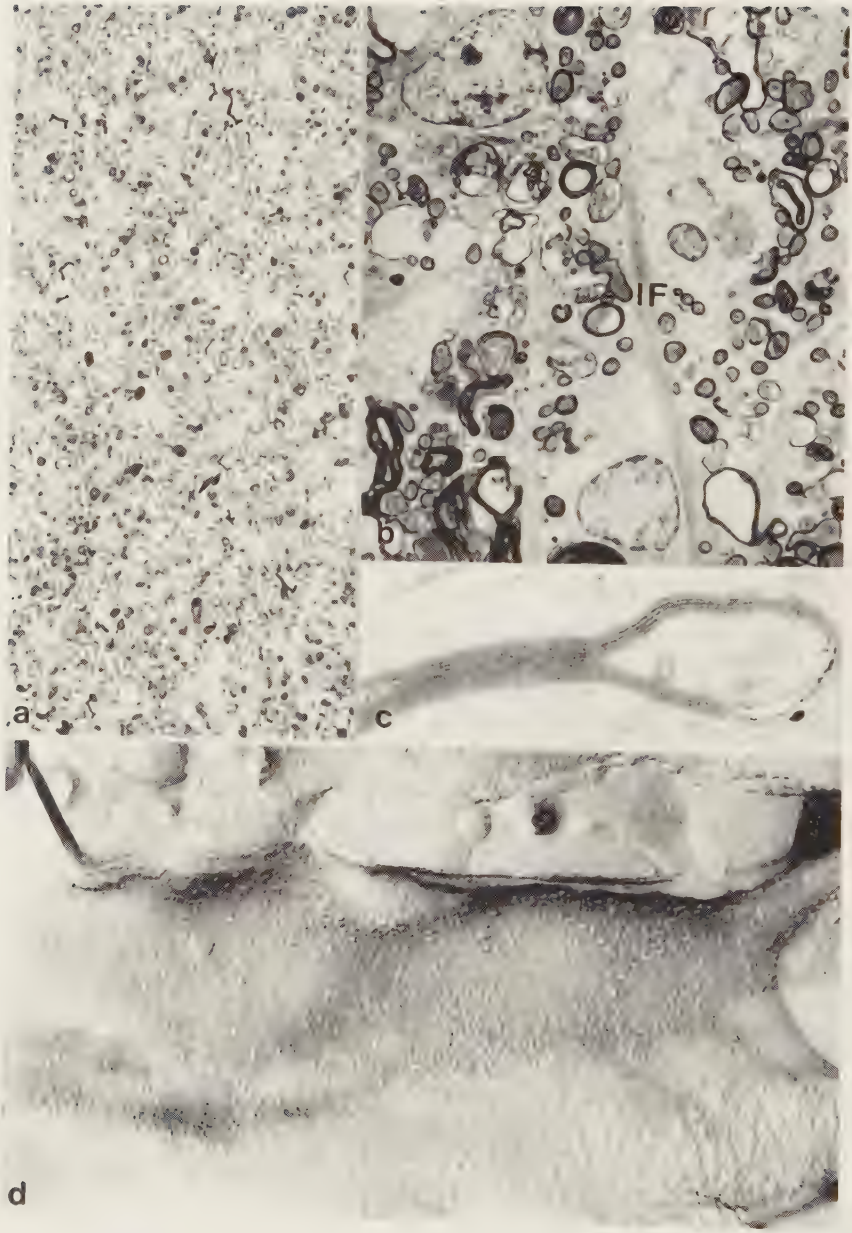


Abb. 19 Dichteverteilung der orthogonalen Partikelkomplexe auf den reaktiven Astrocyten im degenerierten Sehnerv des Huhnes 39 Tage nach Enukleation. Der Mittelwert (94 OPK/µm²) liegt unter der durchschnittlichen OPK-Dichte im unbehandelten Sehnerven (116 OPK/µm²).

Abb. 20 (Seite 46) Sehnerv eines Huhnes 39 Tage nach Enukleation

a) Fortgeschrittenes Stadium der Wallerschen Degeneration 450 : 1
b) Die Reste der degenerierten Axone sind stark verdichtet und dunkel. Das Myelin ist verformt und z.T. aufgespalten. Dazwischen drängen sich filamentreiche Astrocytenfortsätze (IF). 6 500 : 1
c) Die lamelläre Schichtung des Myelins bleibt z.T. auch bei den Markballen noch erhalten. 60 000 : 1
d) P-face einer Astrocytenmembran. Die durchschnittliche OPK-Dichte über der gesamten Fläche beträgt 58 OPK/µm². Wegen der ungleichen Verteilung der OPK liegt diese Dichte an keiner Stelle vor; rechts unten im Bild beträgt sie 325 OPK/µm², auf dem Rest der Fläche 8 OPK/µm². 78 800 : 1


IF
a
b
c
d

2.3. Säugetier

2.3.1. Neonatale und juvenile Ratten

Bei den neugeborenen Ratten sind die Astrocyten noch undifferenziert (Valat et al, 1983). Die ersten orthogonalen Partikelkomplexe auf Astrocytenmembranen wurden am 4.Lebenstag gefunden. Die Myelinisierung der Axone beginnt am 6.Lebenstag (Kuwabara, 1975). Eine Läsion zu diesem Zeitpunkt unterbricht die normale Differenzierung der Gliazellen und führt zu einem anderen Bild als eine Läsion am adulten Sehnerven. Da noch keine Markscheiden vorhanden sind, findet man bei der Enukleation 5 Tage alter Ratten im degenerierten Sehnerven keine Markabbauprodukte. Bereits 20 Tage nach der Enukleation (25.Lebenstag) ist vom Abbau nichts mehr zu erkennen und der gesamte Querschnitt des N.opticus ist von Astrocytenfortsätzen ausgefüllt (Abb. 23a). Diese liegen dicht nebeneinander und lassen nur noch Platz für ein paar kleine Blutgefäße. Am Rande des degenerierten Sehnerven bilden die Astrocyten fingerförmige Ausstülpungen, die von einer Basalmembran begrenzt werden und an eine Schicht kollagener Fasern im subpialen Raum angrenzen (Abb. 23b). Der Querschnitt des postnatal degenerierten Sehnerven bleibt bis ins adulte Stadium klein (Durchmesser o,1 x o,2 mm). Zwischen den Astrocytenfortsätzen sind viele gap junctions, die diese miteinander verbinden (Abb. 23b). 20 Tage nach Beginn der Degeneration sind die orthogonalen Partikelkomplexe statistisch über die Astrocytenmembran verteilt (Abb. 23c). Ihre Dichte liegt mit durchschnittlich 10 OPK/μm^2 kaum höher als zum Zeitpunkt der Enukleation (5.Lebenstag) und niedriger als bei gleichaltrigen Kontrolltieren (Tabelle 1). Die Dichte der OPK steigt dann rasch an und liegt sowohl 50 als auch 100 Tage nach der Enukleation (55.bzw. 105.Lebenstag) höher als die OPK-Dichten 50 und 100 Tage nach der Degeneration des adulten Ratten-Sehnerven (Abb. 22, 24). Die postnatale Degeneration führt auch zu einer Erhöhung der OPK-Dichte auf der Astrocytenmembran gegenüber gleichaltrigen Kontrolltieren (Tabelle 1).

Bei der Blendung juveniler Ratten im Alter von 2 Monaten liegt die OPK-Dichte 150 Tage nach der Operation (Alter dann 7 Monate) mit 84 OPK/μm^2 unter der OPK-Dichte 100 Tage nach Läsion des neonatalen Sehnerven (183 OPK/μm^2) aber deutlich über der OPK-Dichte auf den reaktiven Astrocyten 100 Tage nach Quetschung des adulten Sehnerven (42 OPK/μm^2) (Tabelle 1, Abb. 21). Gegenüber gleichaltrigen Kontrolltieren ist die OPK-Dichte nach Degeneration des juvenilen Sehnerven um ca. 30% niedriger.

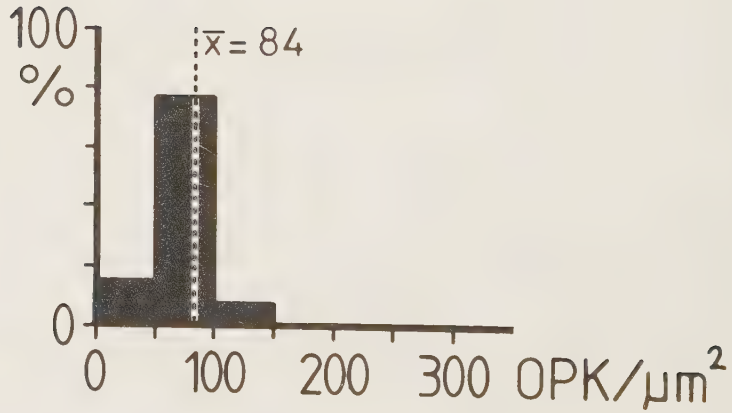


Abb. 21 Verteilung der OPK-Dichte auf Astrocytenmembranen im degenerierten Sehnerv von 7 Monate alten Ratten deren N.opticus 150 Tage vorher durchtrennt wurde. Der Mittelwert liegt mit 84 OPK/μm^2 unter der OPK-Dichte gleichaltriger Kontrollen (121 OPK/μm^2).

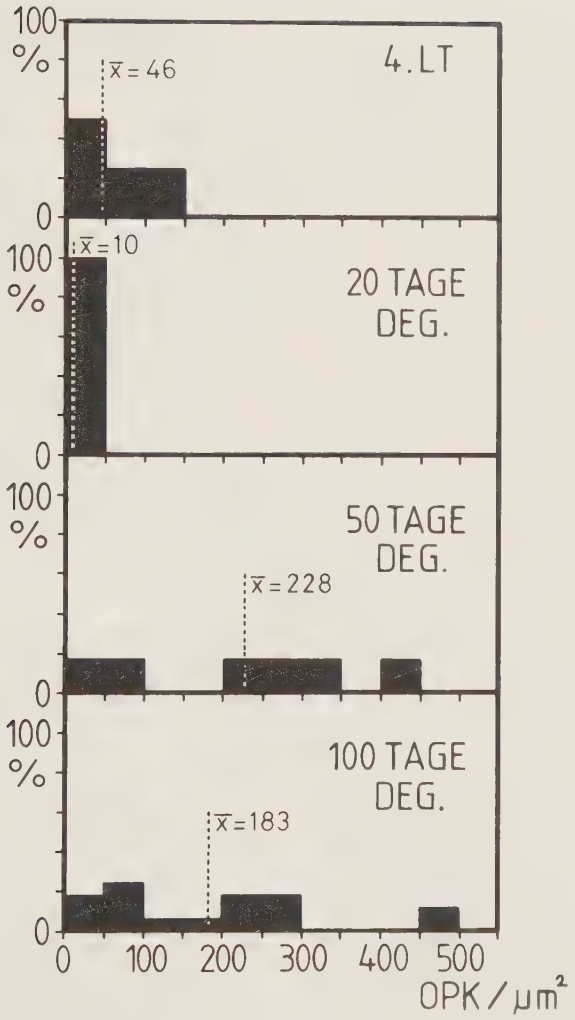


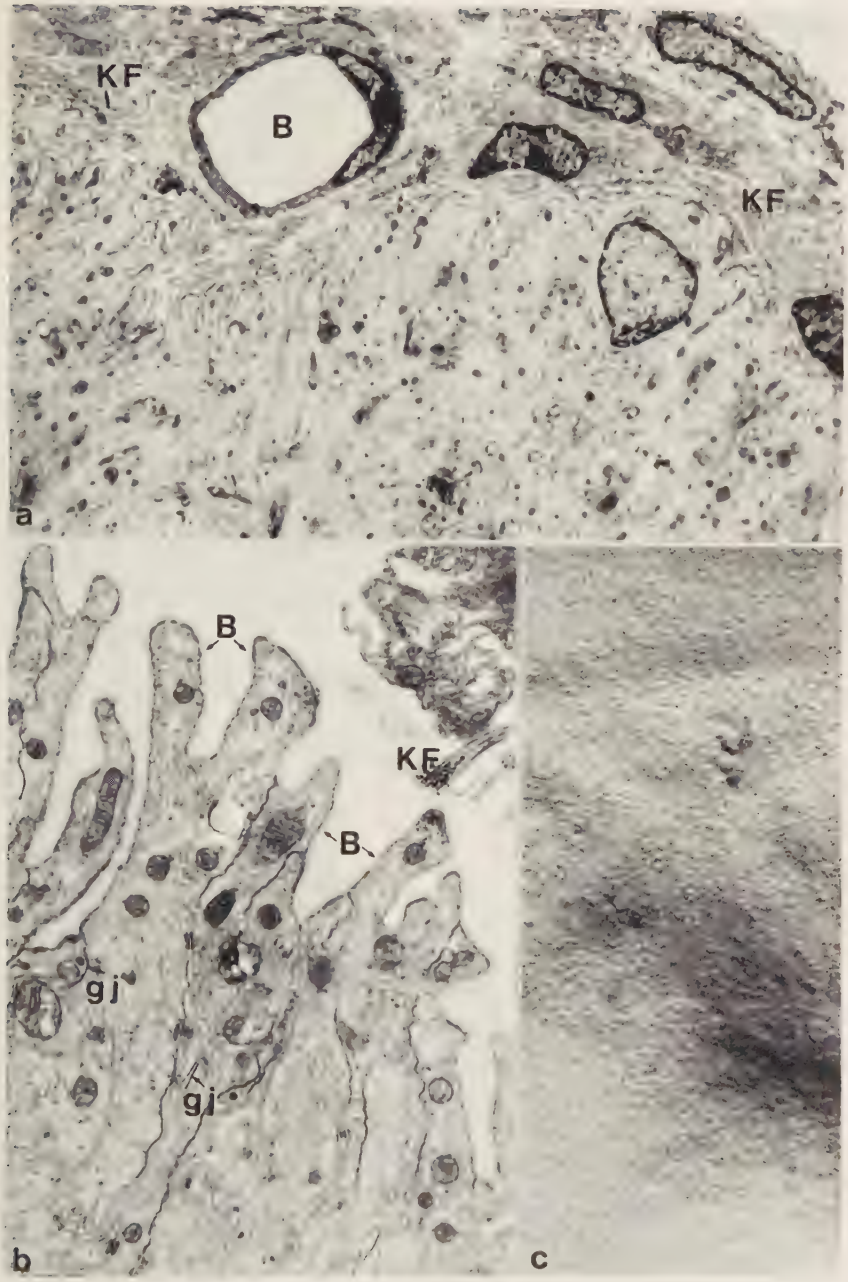
Abb. 22 Entwicklung der OPK-Dichte auf Astrocytenmembranen im Sehnerven nach Enukleation 5 Tage alter Ratten. 50 und 100 Tage nach Beginn der Degeneration liegen die Werte über der OPK-Dichte gleichaltriger Kontrollen

Abb. 23 (Seite 51)

a) Degenerierter Sehnerv einer 25 Tage alten Ratte (20 Tage nach Enukleation). Der gesamte Querschnitt des Nervus opticus ist von Astrocytenfortsätzen ausgefüllt.
KF: kollagene Fasern im subpialen Raum;
B: Blutgefäß
4 800 : 1

b) Degenerierter Sehnerv einer Ratte (104.Lebenstag), 99 Tage nach Enukleation. Die fingerförmigen Astrocytenfortsätze zum subpialen Raum werden von einer Basalmembran (B) begrenzt. Die Fortsätze sind vielfach durch gap junctions (gj) miteinander verbunden.
KF: kollagene Fasern im subpialen Raum
20 000 : 1

c) Gleicher Sehnerv wie in Abb. 23b. Die Astrocytenmembran enthält mehr orthogonale Partikelkomplexe (hier 217 OPK/μm^2) als Astrocyten im Sehnerv gleichaltriger Kontrolltiere.
63 000 : 1


KF
B
KF
a
B
KF
B
gj
gj
b
c

2.3.2. Adulte Ratten

Die Läsion (Quetschung) des Sehnerven adulter Ratten ergibt ein ganz anderes Resultat: Zerfall und Abbau der Markscheiden prägen das Bild des degenerierenden Sehnerven (Abb. 25a). 6 Tage nach Quetschung des Nervus opticus hinter dem Augapfel ist die Mehrzahl der Axone abgebaut, die noch vorhandenen sind flockig verdichtet und erscheinen im elektronenmikroskopischen Bild dunkel (Abb. 25b). Die degenerierten Myelinscheiden bilden Markballen, die z.T. von Astrocyten oder von Leukocyten, die aus dem Blut einwander, phagocytiert werden, z.T. isoliert nebeneinander liegen. Die lamelläre Schichtung der Markmäntel bleibt manchmal lange erhalten. 50 Tage nach Quetschung ist die Schichtung zum größten Teil aufgelöst und es bilden sich dunkle Lipidtropfen. Der freigewordene Raum wird von Astrocytenfortsätzen ausgefüllt. 100 Tage nach Sehnervquetschung findet man noch immer vereinzelt Markballen in Myelophagen (Abb. 26b). Daneben deuten Lipidtropfen auf den vorangegangenen Markabbau hin. Der weitaus größte Teil des degenerierten N. opticus besteht zu diesem Zeitpunkt aus einem engen Flechtwerk aus faserreichen Astrocytenfortsätzen. Im Längsschnitt (Abb. 26a) erkennt man, daß die Zellkerne der Astrocyten häufig zu Reihen zusammengelagert sind. Der orbitale Abschnitt des Sehnerven unterliegt einer ischämischen Nekrobiose.

Die quantitativen Bestimmungen der OPK-Dichte an Gefrierätzreplikas von Astrocytenmembranen zeigen eine kontinuierliche Abnahme der OPK-Dichte 6, 50 und 100 Tage nach Läsion gegenüber den Kontrolltieren (Abb. 24; Tabelle 1). Die durchschnittliche OPK-Dichte liegt 100 Tage nach Läsion des adulten Sehnerven (42 OPK/μm^2) um 70% unter dem Mittelwert unbehandelter Kontrollen (121 OPK/μm^2); dagegen liegt die OPK-Dichte 100 Tage nach Läsion des postnatalen Sehnerven (183 OPK/μm^2) um 50% über den Kontrollwerten (Abb. 22, 24, Tabelle 1). Neben den orthogonalen Partikelkomplexen (Abb. 25c, 26c) findet man auf den Astrocytenmembranen kleine gap junctions; andere Zwischenzellverbindungen fehlen.

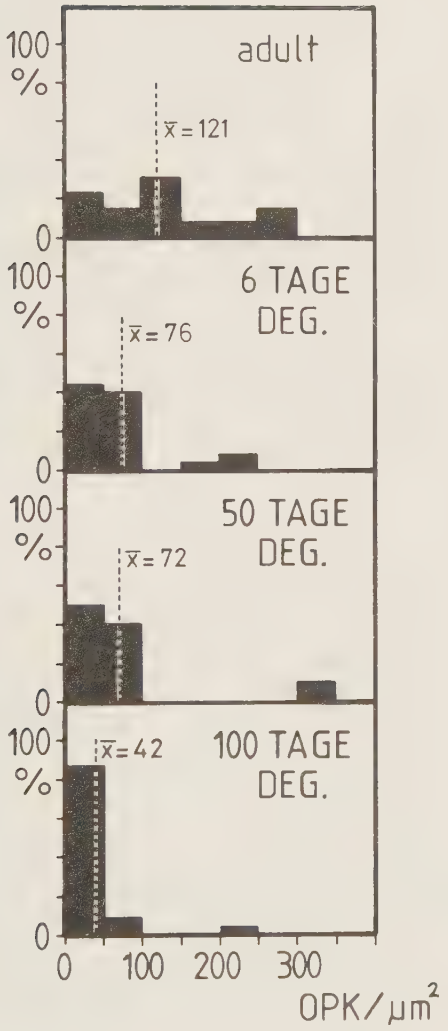


Abb. 24 Entwicklung der OPK-Dichte auf reaktiven Astrocyten nach Läsion des Sehnerven adulter Ratten. Die Degeneration im adulten ZNS bewirkt eine Abnahme der OPK-Dichte auf der Astrocytenmembran.

Tierart	Versuch	Anzahl der Flächen	Gesamtfläche (μm^2)	Mittelwert OPK/μm^2
Schildkröte + Echse	unbehandelt	19	22,37	15
Taube + Huhn	unbehandelt	20	12,05	116
Huhn	39 Tage Deg.	5	4,06	94
Ratte	4.Lebenstag	4	7,59	46
Ratte	10.Lebenstag	16	24,59	88
Ratte	adult	13	12,16	121
Ratte	20 Tage Deg. postnatal	6	10,22	10
Ratte	50 Tage Deg. postnatal	6	4,69	228
Ratte	100 Tage Deg. postnatal	17	11,57	183
Ratte	6 Tage Deg. adult	25	41,46	76
Ratte	50 Tage Deg. adult	10	11,68	72
Ratte	100 Tage Deg. adult	23	20,34	42
Ratte	150 Tage Deg. juvenil	13	18,14	84

Tabelle 1 Quantitative Bestimmung der Dichte der orthogonalen Partikelkomplexe auf Astrocytenmembranen unbehandelter und degenerierter Sehnerven verschiedener Wirbeltierarten.

Abb. 25 (Seite 56) Nervus opticus einer adulten Ratte 6 Tage nach retrobulbärer Quetschung.

a) Übersicht. A: Arteria nervi optici; 180 : 1

b) Elektronenmikroskopischer Ausschnitt aus dem gleichen Sehnerv wie in Abb. 25a. Viele der Axone sind bereits abgebaut, die anderen z.T. stark verdichtet. Die degenerierenden Myelinscheiden haben sich z.T. schon zu Markballen (MB) zusammengelagert, daneben gibt es noch Markfasern (*) die normal aussehen. Zwischen die degenerierenden Fasern drängen sich filamentreiche Astrocytenfortsätze. 3 400 : 1

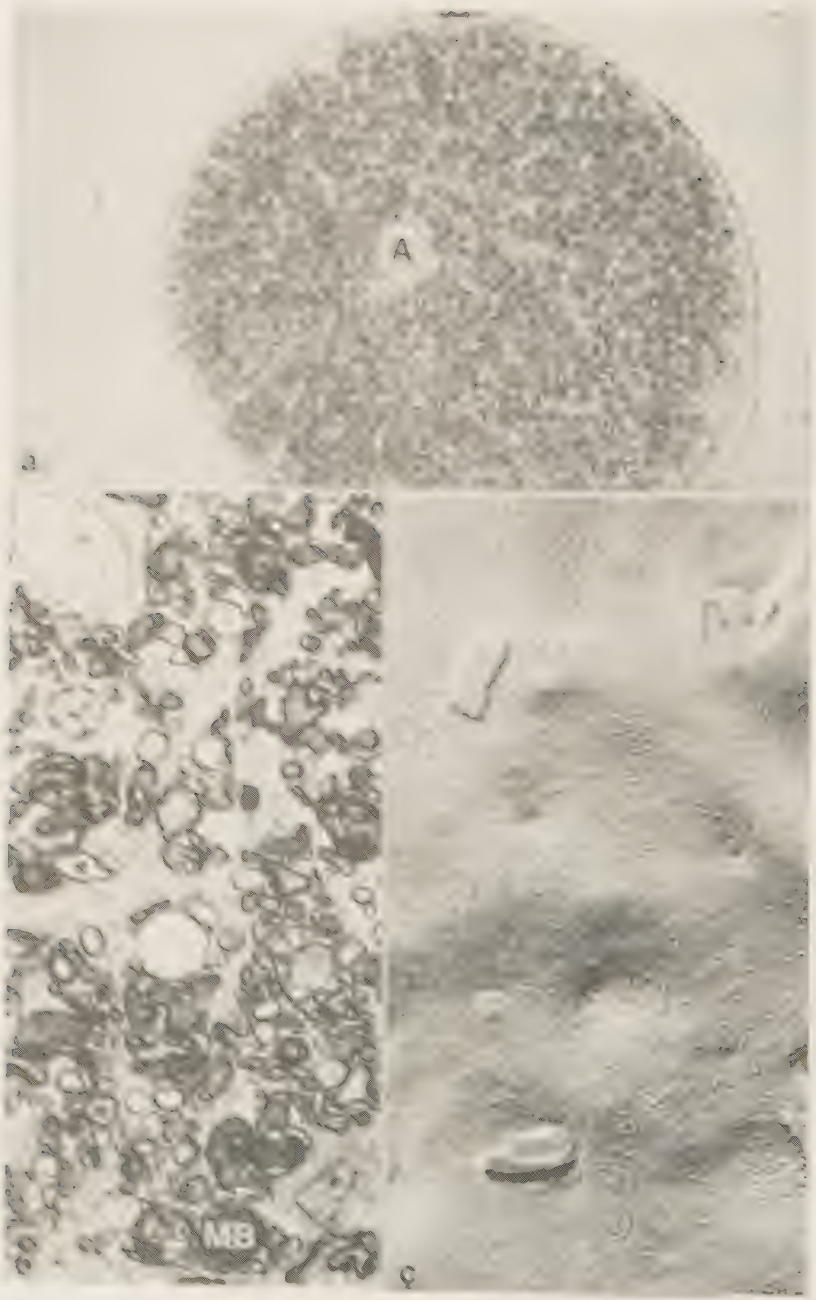
c) Gefrierbruchbild aus dem gleichen Sehnerven wie in Abb. 25a. Auf den reaktiven Astrocyten im degenerierenden Sehnerv der adulten Ratte nimmt die OPK-Dichte ab (hier: 50 OPK/μm^2). 75 000 : 1

Abb. 26 (Seite 57) Nervus opticus einer adulten Ratte 100 Tage nach retrobulbärer Quetschung.

a) Längsschnitt; Vom Markabbau ist immer noch degeneriertes Material zu sehen (dunkle Flecken). Die Zellkerne der Gliazellen liegen häufig in Reihen dicht hintereinander. 450 : 1

b) Die filamentreichen Astrocytenfortsätze füllen den größten Teil des freigewordenen Platzes aus. In Makrophagen sind Lipidtropfen (L) und z.T. auch noch Myelinfiguren (M) zu erkennen. 6 800 : 1

c) Auch im fortgeschrittenen Stadium der Degeneration des adulten ZNS ist die Dichte der orthogonalen Partikelkomplexe niedriger (hier 27 OPK/μm^2) als bei den adulten Kontrolltieren.
PF: P-face der Astrocytenmembran
EF: E-face der Astrocytenmembran
94 500 : 1


A
MB
C

a
L
M
b
PF
EF
c

IV Diskussion

Für die Regenerationsunfähigkeit des ZNS Höherer Wirbeltiere wird von vielen Autoren die Astroglia verantwortlich gemacht. Während die Astrogliazellen im ZNS Niederer Wirbeltiere nach Läsionen Faszikel bilden und durch diese Leitstrukturen die Axonregenerate zu ihren Zielorten führen (Turner and Singer, 1975; Nordlander and Singer, 1978; Singer et al, 1979; Simpson, 1983), kommt es nach Läsion des ZNS Höherer Wirbeltiere zur Bildung einer dichten Gliabarriere aus Astrocytenfortsätzen, die ein gezieltes Wachstum von Axonregeneraten unmöglich macht (Veraa and Grafstein, 1981; Reier et al, 1983). Diese unterschiedlichen Reaktionen nach Läsion des ZNS verschiedener Wirbeltierarten ließen es sinnvoll erscheinen, nach möglichen Unterschieden in den Interaktionen zwischen aussprossenden Axonregeneraten und Astrocyten im verletzten ZNS verschiedener Wirbeltierspecies zu suchen.

1. Orthogonale Partikelkomplexe auf Astrocyten und anderen Zellen

Die Astrocytenmembran der Säugetiere ist charakterisiert durch den Besitz von orthogonalen Partikelkomplexen (OPK) (Dermietzel, 1974; Anders and Brightman, 1979; Landis and Reese, 1974, 1981; Hatton and Ellisman, 1981, 1982). Diese OPK sind auf der Membran nicht gleichmäßig verteilt, sondern sie sind an der Grenze zum Interstitium oder an Kapillaren-Endfüßchen, also immer dort, wo Astrocyten an flüssigkeitsgefüllte Räume grenzen, besonders gehäuft. Dagegen sind sie in der perikaryalen Membran nicht oder relativ selten anzutreffen (Landis and Reese, 1981). Über die Funktion der OPK ist nichts Sicheres bekannt; aufgrund ihrer Verteilung spekuliert man, sie könnten etwas mit Wasser- oder Ionentransport zu tun haben.

Neuere Arbeiten, und auch die vorliegende, haben gezeigt, daß bei Niederen Vertebraten die OPK auf Astrocyten fehlen (bei Amphibien: Korte and Rosenbluth, 1981; Wolburg and Kästner, 1984 b; bei Fischen: Wolburg et al, 1983; Kästner and Wolburg, 1984; Gotow and Hashimoto, 1984). Wujek und Reier (1984) beschreiben zwar auf Astrocytenmembranen von Molchen (Triturus viridescens) einige Aggregate von IMPs die den orthogonalen Partikelkomplexen ähnlich sind ("a few aggregates of IMPs that resembled orthogonal arrays") bzw. sogar nur zufällig geradlinig angeordnete IMPs ("only an occasinal rectilinear aggregate IMPs"); sie sind aber auch der Meinung, daß die Astrocytenmembranen im Nervus opticus der untersuchten Amphibien eigentlich frei sind von OPK ("these membranes were virtually free of orthogonal arrays").

Die orthogonalen Partikelkomplexe auf Astrocytenmembranen sind aber nicht wie Gotow und Hashimoto (1984) schreiben auf die Astrocyten der Säugetiere beschränkt, sondern können, wie in der vorliegenden Arbeit und bei Wolburg und Kästner (1984b, c) gezeigt wird, auch auf den Astrocytenmembranen von Vögeln und Reptilien nachgewiesen werden.

Orthogonale Partikelkomplexe (square arrays of particles) sind auf verschiedensten Zellen beschrieben worden. Außer auf Astrocytenmembranen sind sie z.B. in Muskelfasermembranen (Rash and Ellisman, 1974), auf olfaktorischen Rezeptorzellen (Usukura and Yamada, 1978; Miragall, 1983), auf Satellitenzellen in Spinalganglien (Pannese et al, 1977) und im Luftröhrenepithel (Inoue and Hogg, 1977) gefunden worden. Bemerkenswerterweise treten bei solchen Species, deren Astrocyten frei von OPK sind, in anderen Geweben orthogonale Partikelkomplexe auf; so z.B. in der Muskulatur des Frosches (Franzini-Armstrong, 1984), in der Epidermis des Salamanders (Robenek and Greven, 1980) und in den Kiemen des Fisches (Myxine glutinosa; Bartels, 1984). Unklar bleibt dabei, ob die OPK auf anderen Zellen demselben Genprodukt entsprechen wie die orthogonalen Partikelkomplexe der Astrocytenmembran.

Da bekannt ist, daß nach Läsionen Teile des ZNS bei Fischen (Murray, 1976; Wolburg, 1981; Kästner and Wolburg, 1982) und Amphibien (Scott and Foote, 1981; Bohn et al, 1982) regenerieren können, bei den Höheren Wirbeltieren dagegen eine Regeneration des ZNS unmöglich ist (Berry, 1979; Reier et al, 1983), besteht eine Parallelität zwischen dem Auftreten von OPK auf Astrocytenmembranen und dem Verschwinden der Regenerationsfähigkeit zentralnervöser Strukturen (Wujek and Reier, 1984). Neben dieser phylogenetischen Parallelität gibt es auch eine ontogenetische zwischen dem Fehlen von OPK auf Astrocytenmembranen im embryonalen Säugetier-ZNS (Anders and Brightman, 1979) und der Regenerationsfähigkeit des embryonalen Säugetier-ZNS (Berry, 1979; Kalil and Reh, 1982). Untersuchungen (Gearhart et al, 1979), nach denen die axonale Regeneration im fetalen Rückenmark von Mäusen mißlingt, sprechen nicht notwendigerweise gegen diesen Zusammenhang zwischen OPK-Vorkommen und Regenerationsunfähigkeit, da die Annahme einer Alleinverantwortlichkeit der OPK für das Nicht-Zustandekommen von regenerativem Faserwachstum wenig vernünftig wäre. Dennoch bleibt unklar wie der Unterschied in den Ergebnissen zwischen Kalil und Reh (1982) und Gearhart et al (1979) erklärt werden kann.

Weiterhin findet man im olfaktorischen System von Säugetieren dessen Nervenzellen ständig erneuert werden und das regenerationsfähig ist (Graziadei and Montigraziadei, 1980; Raisman, 1985) Astrocytenmembranen, die frei von orthogonalen Partikelkomplexen sind (Landis and Reese, 1974).

Die extreme Labilität der OPK, die Landis und Reese (1981 a) nach Unterbrechung der Blutzufuhr beschrieben haben, konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht bestätigt werden. Bei der vorliegenden Untersuchung war die Erhaltung der OPK nach Perfusionsfixierung nicht besser als nach Präparation am narkotisierten Tier und anschließender Immersionsfixierung oder Entnahme des Gewebes am frisch dekapitierten Tier und anschließender Immersionsfixierung in Glutaraldehyd.

Problematisch für die Bestimmung der OPK-Dichte ist die ungleiche Verteilung der OPK auf verschiedenen Abschnitten der Astrocytenmembran. Es ist nicht möglich, auf Gefrierbrüchen eine perivaskuläre oder subpiale Lage eines Astrocytenfortsatzes eindeutig auszuschließen wie das z.B. Anders und Brightman, 1979, Hatton und Ellisman, 1982 und Wujek und Reier, 1984 machen, da sich das kollagene Bindegewebe oder die Kapillare auch oberhalb bzw. unterhalb der gebrochenen Ebene befinden kann. Da Serienbrüche, vergleichbar mit Serien bei Semi- oder Ultradünnschnitten bei der Gefrierätzung nicht möglich sind, kann über die Lage einer Astrocytenmembran (perikaryal bzw. perivaskulär oder subpial) nicht immer eindeutig entschieden werden. Zum anderen gibt es bei den vorliegenden quantitativen Bestimmungen der OPK-Dichten keine Anhäufung von bestimmten Werten wie sie bei Wujek und Reier (1984) dargestellt ist, sondern die Werte sind über das gesamte Spektrum ziemlich gleichmäßig verteilt, so daß es willkürlich wäre, eine Grenze zwischen OPK-Dichten im Parenchym und an der Glia limitans zu legen. Hinzu kommt, daß z.B. bei den reaktiven Astrocyten im degenerierten Sehnerv adulter Ratten und im unbehandelten Sehnerv vom Huhn auch Astrocytenmembranen gefunden wurden, die eindeutig als Glia limitans zu identifizieren sind, aber dennoch eine geringe OPK-Dichte aufweisen. Außerdem ist zu bedenken, daß es OPK gibt die aus 6 Einzelpartikeln aufgebaut sind, aber auch welche, die aus 30 Einzelpartikeln bestehen. Da beides in der vorliegenden Arbeit wie auch bei quantitativen Bestimmungen anderer Autoren (z.B. Wujek and Reier, 1984) als 1 OPK gezählt wird, ist die Bestimmung der OPK-Dichte pro μm^2 alleine nur bedingt aussagekräftig.

2. Zwischenzellverbindungen auf Astrocytenmembranen

Bisher sind als Zwischenzellverbindungen bei Astrocyten immer nur gap junctions beschrieben worden (Brightman and Reese, 1969; Mugnaini, 1982; Massa and Mugnaini, 1982).

Daß bei Fischen auch tight junctions auf Astrocytenmembranen vorkommen (Wolburg et al, 1983) ist neu und von Gotow und Hashimoto (1984) bestätigt worden. Die einzige Ausnahme bei Säugetieren ist die Beschreibung von tight- und gap junctions auf den Tanycyten in der Eminencia mediana bei Ratten durch Hatton und Ellisman (1982). Die Kombination von gap junctions zwischen den Strängen der tight junctions wie es in der vorliegenden Arbeit bei den Astrocyten der Karausche gefunden wurde ist bei anderen Geweben mehrfach beschrieben worden (Friend and Gilula, 1972; Meda et al, 1979; Lane and Chandler, 1980; Stolinski and Breathnach, 1982). Desmosomen im ZNS kommen nur bei poikilothermen Tieren vor (Mugnaini, 1982). Bei der Karausche sind sie auch zusammen mit tight junctions zu finden.

3. Reaktion der Astrocyten bei Degeneration bzw. Regeneration des ZNS

In der vorliegenden Arbeit wird eine astroglio-axonale Interaktion während der Regeneration des Sehnerven von Fischen beschrieben. Ob die zwei verschiedenen Zustandsformen der Astrogliamembran, die in Kontakt mit marklosen Axonregeneraten steht (gewellt: ungleiche Partikelverteilung; glatt: zufällige Partikelverteilung; vgl. Abb. 16a,b), zeitlich aufeinanderfolgende Zustände einer Astrogliazelle sind oder aber zu zwei verschiedenen Zellen gehören, wurde nicht geklärt. Es ist aber wahrscheinlich, daß es sich um rhythmische, aufeinanderfolgende Zustandsformen handelt, da Zustände beobachtet wurden, die einer schwachen Wellung der Membran und einer nur angedeuteten Ungleichheit der Partikelverteilung entsprechen. Diese Phänomene der Membranveränderung treten nur während der Regeneration, d.h. nur beim Kontakt der Astrocyten mit marklosen Axonen auf. Im unbehandelten Sehnerven und nach vollständiger Regeneration sind die Partikel auch bei wellenförmigen Astrocytenmembranen annähernd gleich

verteilt (vgl. Abb. 4a). Purves (1982) postuliert molekulare Marker auf der Zelloberfläche, welche die regenerierenden Axone leiten. Möglicherweise ist die vorliegende Beobachtung der ungleichen Partikelverteilung auf der Astrocytenmembran im regenerierenden Sehnerv der Karausche das morphologische Korrelat dieser molekularen Leitstrukturen. Da eine ungleichmäßige Partikelverteilung auf der glatten Astrocytenmembran über marklosen Axonregeneraten nicht vorkommt, könnte sie als Antwort der Astrocyten auf axonale Signale verstanden werden, die nur bei unmittelbarem Kontakt zwischen Astrocyt und Axon ausgelöst wird.

Alle Mitteilungen über die Änderung der OPK-Dichte auf reaktiven Astrocyten, d.h. nach Läsion von ZNS-Strukturen (Dubois-Dalcq et al, 1977; Anders and Brightman, 1979, 1982; Wujek and Reier, 1984) beziehen sich auf Degenerationen im ZNS postnataler Säugetiere, d.h. die Einwirkung der die Degeneration auslösenden Faktoren trifft immer auf Gliazellen im unreifen ZNS. Die vorliegende Untersuchung über die Degeneration des Sehnerven neonataler Ratten bestätigen die Zunahme der OPK-Dichte auf den Membranen reaktiver Astrocyten. Die Zunahme der OPK-Dichte beschränkt sich dabei auf Astrocytenmembranen im Parenchym, während die OPK-Dichte auf subpial oder perivaskulär liegenden Astrocytenmembranen nicht zunimmt. Dabei ist zu beachten, daß die Erhöhung der Zahl der OPK in reaktiven Astrocyten nach Läsion neonataler Ratten stärker war als die altersbedingte Zunahme der OPK. 50 Tage nach Enukleation neonataler Ratten liegt die mittlere OPK-Dichte bei 228 OPK/μm^2, wohingegen die Dichte bei 50 Tage alten Kontrolltieren und bei adulten Ratten, 50 Tage nach Läsion, mit 121 bzw. 72 OPK/μm^2 deutlich niedriger lag. Im Widerspruch zu den Ergebnissen von Reier und Wujek (unveröffentlichtes Zitat aus Wujek and Reier, 1984), nach denen sich die OPK-Dichte auch in reaktiven Astrocyten adulter Ratten erhöht, liegen in der vorliegenden Studie keine Anzeichen für eine Erhöhung der OPK-Dichte auf reaktiven Astrocyten im degenerierten Sehnerv adulter Ratten vor. Die

quantitativen Bestimmungen der OPK-Dichte zeigen eine kontinuierliche Abnahme der durchschnittlichen OPK-Dichten 6, 50 und 100 Tage nach Quetschung des adulten Sehnerven gegenüber den Kontrolltieren (Tabelle 1, Abb. 24).

Auch bei den reaktiven Astrocyten im degenerierten Sehnerven des Huhnes (39 Tage nach Enukleation) kommt es nicht zu einer Erhöhung der orthogonalen Partikelkomplexe (94 OPK/μm^2) im Vergleich zu den Kontrollen (116 OPK/μm^2)(Tabelle 1). Ebenso kommt es auch bei der Degeneration des Nervus opticus von Amphibien (Wujek and Reier, 1984) nicht zu einer Erhöhung der Aggregate von IMP, die man allerdings auch kaum als orthogonale Partikelkomplexe bezeichnen kann.

Ob die Heterogenität der Astrocyten in degenerierten Teilen des ZNS mit der von Kitamura (1980) beschriebenen Beobachtung zu tun hat, daß die reaktiven Astrocyten nicht aus Astrocyten sondern aus Mikrogliazellen entstehen, konnte nicht geklärt werden. Nach dieser Untersuchung würden im degenerativ veränderten ZNS die präexistenten Astrocyten persistieren und die reaktiven aus Mikrogliazellen hervorgehen. Unklar ist auch noch, bei welchen Species überhaupt Mikrogliazellen im Nervus opticus vorkommen.

4. Hypothese zur Rolle der Astrocyten für die Regenerationsfähigkeit des ZNS

Die phylogenetische und ontogenetische Korrelation zwischen dem Auftreten der orthogonalen Partikelkomplexe auf Astrocytenmembranen und dem Verschwinden der Regenerationsfähigkeit des ZNS sind Grundlage für die folgende Arbeitshypothese:

Enthalten Astrocytenmembranen keine OPK, so ist dieses zentrale Nervengewebe regenerationsfähig; treten OPK in der Astrocytenmembran auf, dann verhindern die Astrocyten die Regeneration des ZNS.

Ob die OPK ursächlich an der Behinderung der Regeneration beteiligt sind und z.B. die notwendigen astroglio-axonalen Interaktionen für eine erfolgreiche Regeneration verhindern, oder ob sie nur mittelbar Ausdruck andersartiger Astrocyten sind, die sich bei einer Degeneration anders verhalten als Astrocyten ohne OPK, ist damit noch nicht gesagt. Eine direkte Verursachung der Regenerationsunfähigkeit durch die OPK ist unwahrscheinlich, da die OPK Intramembranproteine sind, die gar nicht an die Membranoberfläche reichen und somit auch nicht unmittelbar mit der Umgebung wechselwirken können. Daher wird eine Vermittlung durch an OPK gebundene Moleküle gefordert, die an der Oberfläche der Membran sitzen und Interaktionen mit anderen Zellen steuern oder beeinflussen können.

Um weitere Kriterien für eine mögliche Korrelation zwischen dem Auftreten von OPK auf Astrocytenmembranen und der Regenerationsfähigkeit des ZNS zu bekommen, wäre es aufschlußreich, Regenerationsexperimente in Verbindung mit Gefrierbruchuntersuchungen der Astrocytenmembran bei Reptilien durchzuführen über die nur wenige und widersprüchliche Untersuchungen existieren. Außerdem wäre es erfolgversprechend, Transplantationsexperimente durchzuführen, bei denen in ein regenerationsfähiges ZNS (z.B. Goldfisch) Astrocyten aus einer Kultur von einem Säugetier-ZNS transplantiert werden. Diese kultivierten Astrocyten, die meist aus neonatalem Säuger-ZNS gewonnen werden, differenzieren sich zwar in der Kultur, die OPK-Dichte bleibt jedoch niedrig (1 - 3 OPK/μm^2) und weit unter der Dichte im adulten ZNS (Landis and Weinstein, 1983). Ein weiteres wichtiges Experiment wäre die Transplantation einer Glianarbe eines Säugetieres, z.B. ein degenerierter Sehnerv dessen Astrocytenmembranen eine relativ hohe OPK-Dichte aufweisen, in ein regenerationsfähiges ZNS, z.B. in den Nervus opticus oder das Tectum eines Goldfisches.

V ZUSAMMENFASSUNG

Es wird die Morphologie der Sehnerven von Fischen, Amphibien, Reptilien, Vögeln und Säugetieren unter besonderer Berücksichtigung der Membranarchitektur der Astrocyten beschrieben, die mit Hilfe der Gefrierbruchtechnik untersucht wurde. Die unterschiedliche Reaktion der Astrocyten nach Läsion des Nervus opticus wird geprüft und im Zusammenhang mit der Regenerationsfähigkeit des ZNS diskutiert.

1) Die Membranen der Astrocyten im N. opticus des Goldfisches und Teichfrosches besitzen keine orthogonalen Partikelkomplexe (OPK).
2) Die Astrocytenmembranen im Sehnerv der Dosenschildkröte, Echse (Anolis), Haushuhn, Haustaube und Ratte tragen OPK.
3) Auf der Astrocytenmembran des Goldfisches sind zahlreiche gap junctions, tight junctions und Desmosomen.
4) Der Sehnerv des Goldfisches kann nach Quetschung morphologisch und funktionell regenerieren. Die reaktiven Astrocyten im gequetschten N. opticus bilden Tunnelstrukturen, die in engem Kontakt mit den zunächst marklosen Axonregeneraten stehen. Während der Regeneration tritt auf wellenförmig verformten Astrocytenmembranen, die in Kontakt mit marklosen Axonregeneraten stehen, eine ungleiche Verteilung von IMP auf, die nach vollständiger Regeneration und im unbehandelten Sehnerv nicht zu finden ist.
5) Die reaktiven Astrocyten im degenerierenden N. opticus von Hühnern und Ratten bilden eine dichte Glianarbe; eine Regeneration der Axone findet nicht statt. Die Dichte der OPK nimmt bei den reaktiven Astrocyten der Hühner und adulten Ratten ab. Nur bei der Degeneration des postnatalen Ratten-Sehnerven kommt es zur Erhöhung der OPK-Dichte auf der Astrocytenmembran.
6) Arbeitshypothese: Da in regenerationsfähigen Regionen des Wirbeltier-ZNS nur Astrocyten ohne OPK zu finden sind,

dagegen die Regenerationunfähigkeit mit dem Auftreten von OPK gekoppelt zu sein scheint, wird vermutet, daß die Anwesenheit von OPK in der Astrocytenmembran mindestens einer von mehreren Faktoren ist, der das Wachstum von Nervenfasern behindert.

VI LITERATUR

ANDERS,J.J. and M.W.BRIGHTMAN (1979): Assemblies of particles in the cell membranes of developing, mature and reactive astrocytes. J.Neurocytol. 8, 777 - 795

- " - (1981): Orthogonal assemblies of intramembranous particles - An attribute of the astrocyte. In: Glial and Neuronal Cell Biology, ed. by E.A.Vidrio and S.Fedoroff. 11.Int.Congr.Anat.Part A; Alan R. Liss pp. 21 - 35

- " - (1982): Particle assemblies in astrocytic plasma membranes are rearranged by various agents in vitro and cold injury in vivo. J.Neurocytol. 11, 1009 - 1029

ANTILIO-GAMBETTI,L., J.SIPPLE, O.SUDILOVSKY, P.GAMBETTI (1982): Intermediate filaments of Schwann cells. J.Neurochem. 38,3, 774 - 780

ARORA,H.L. and R.W.SPERRY (1963): Color discrimination after optic nerve regeneration in the fish Astronotus ocellatus. Dev.Biol. 7, 234 - 243

ATTARDI,D.G. and R.W.SPERRY (1963): Preferential selection of central pathways by regenerating optic fibers. Exp.Neurol. 7, 46 - 64

BARTELS,H. (1984): Orthogonal arrays of particles in the gill epithelium of the Atlantic hagfish, Myxine glutinosa. Cell Tiss.Res. 238, 657 - 659

BENFEY,M. and A.J.AGUAYO (1982): Extensive elongation of axons from rat brain into peripheral nerve grafts. Nature 296, 150 - 152

BERNSTEIN,J.J. and M.E.BERNSTEIN (1967): Effect of glial-ependymal scar and teflon arrest on the regenerative capacity of goldfish spinal cord. Exp.Neurol. 19, 25 - 32

- " - (1971): Axonal regeneration and formation of synapses proximal to the site of lesion following hemisection of the rat spinal cord. Exp.Neurol. 30, 336 - 351

BERRY,M. (1979): Regeneration in the central nervous system. In: Recent Adv. in Neuropath., ed. by W.T.Smith and I.B.Cavanagh; Churchill Livingstone, Edinburg, London, New York; No.1, pp. 67 - 111

BERRY,M. and A.C.RICHES (1974): An immunological approach to regeneration in the central nervous system. Br.Med.Bull. 30, 135 - 140

BIGNAMI,A. and D.DAHL (1974): Astrocyte-specific protein and neuroglial differentiation. An immunofluorescence study with antibodies to the glial fibrillary acidic protein. J.comp.Neurol. 153, 27 - 38

BOHN,R.C., P.J.REIER, E.B.SOURBEER (1982): Axonal interactions with connective tissue and glial substrata during optic nerve regeneration in Xenopus larvae and adults. Am.J.Anat. 165, 397 - 419

BRIGHTMAN,M.W. and T.S.REESE (1969): Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. J.Cell Biol. 40, 648 - 677

CAJAL,R.y (1928): Degeneration and regeneration of the nervous system. Vol.II, Oxford Univ. Press, London

CANKOVIC,J.C. (1968): Contribution to the study of regenerative-degenerative qualities of the fasciculi optica in mammals under experimental conditions. Acta anatomica 70, 117 - 123

CHI,N.H., A.BIGNAMI, N.T.BICK, D.DAHL (1980): Autologous sciatic nerve grafts to the rat spinal cord: Immunofluorescence studies with neurofilament and gliofilament (GFA) antsera. Exp.Neurol. 68, 568 - 580

CLEMENTE,C.D. (1964): Regeneration in the vertebrate central nervous system. Int.Rev.Neurobiol. 6, 257 - 299

DERMIETZEL,R. (1974): Junctions in the central nervous system of the cat. III. Gap junctions and membrane-associated orthogonal particle complexes (MOPC) in astrocytic membranes. Cell Tiss.Res. 149, 121 - 135

DUBOIS-DALCQ,M., M.RODRIGUEZ, T.S.REESE, C.J.GIBBS, D.C.GAJDUSEK (1977): Search for a spcific marker in the neural membranes of scrapie mice. J.Lab.Invest. 36, 547 - 553

DUSTIN,A.P. (1910): Le rôle des tropismes et de l'odogenèse daus la régénération du système nerve. Archives de Biologie 25, 269 - 388

EDWARDS,D.L., R.M.ALPERT, B.GRAFSTEIN (1981): Recovery of vision in regeneration of Goldfish optic axons: Enhancement of axonal outgrowth by a conditioning lesion. Exp.Neurol. 72, 672 - 686

EGAR,M. S.B.SIMPSON, M.SINGER (1970): The growth and differentiation of the regenerating spinal cord of the lizard Anolis carolinensis. J.Morph. 131, 131 - 152

FAWCETT,J.W. and R.M.GAZE (1981): The organization of regenerating axons in the Xenopus optic nerve. Barin Res. 229, 487 - 490

FRANZINI-ARMSTRONG,C. (1984): Freeze-fracture of frog slow tonic fibers. Str-cture of surface and internal membranes. Tiss.Cell 16, 647 - 664

FRIEND,D.S. and N.B.GILULA (1972): Variations in tight and gap junctions in mammalian tissue. J.Cell Biol. 53, 758 - 776

GEARHART,J., M.L.OSTER-GRANITE, L.GUTH (1979): Histological and functional changes after transection of the spinal cord of fetal and neonatal mice. Exp.Neurol. 66, 1 - 15

GOLDBERG,S. and B.FRANK (1980): Will cebtral nervous sytems in the adult mammal regenrate after bypassing a lesion? A study in the mouse and chick visual systems. Exp.Neurol. 70, 675 - 689

GOTOW,T. and P.H.HASHIMOTO (1984): Plasma membrane organization of astrocytes in elasmobranchs with special reference to the brain barrier system. J.Neurocytol. 13, 727 - 742

GRAZIADEI,P.P.C. and G.A.MONTI-GRAZIADEI (1980): Neurogenesis and neuron regeneration in the olfactory system of mammals. III. Deafferentiation and reinnervation of the olfactory bulb following section of the fila olfactoria in rat. J.Neurocytol. 9, 145 - 162

GUTH,L., C.P.BARRETT, E.J.DONATI, S.S.DESHPANDE, E.X.ALBUQUERQUE (1981): Histopathological reactions and axonal regeneration in the transected spinal cord of hibernating squirrels. J.comp.Neurol. 203, 297 - 308

GUTH,L., P.J.REIER, C.P.BARRETT, E.J.DONATI (1983): Repair of the mammalian spinal cord. TINS 6, 20 - 24

HARRISON,R.G. (1910): The outgrowth of the nerve fiber as a mode of protoplasmic movement. J.exp.Zool. 9, 787 - 846

- " - (1914): The reaction of embryonic cells to solid structures. J.exp.Zool. 17, 521 - 544

HATTON,J.D. and M.H.ELLISMAN (1981): The distribution of orthogonal arrays and their relationship to intercellular junctions in neuroglia of the freeze-fractured hypothalamo-neurohypophysial system. Cell Tiss.Res. 215, 309 - 323

- " - (1982): The distribution of orthogonal arrays in the freeze-fractured rat median eminence. J.Neurocytol. 11, 335 - 349

INOUE,S. and J.C.HOGG (1977): Freeze-etch study of the tracheal epithelium of normal guinea pigs with particular reference to intercellular junctions. J.Ultrastruct.Res. 61, 89 - 99

KÄSTNER,R. and H.WOLBURG (1982): Functional regeneration of the visual system in Teleosts. Comparative investigations after optic nerve crush and damage of the retina. Z.Naturforsch. 37c, 1274 - 1280

- " - (1984): Gefrierbruchuntersuchungen der Astrocytenmembran von Fisch und Ratte. Anat.Anz.,Jena 156, 149 - 150

KALIL,K. and T.REH (1982): A light and electron microscopic study of regrowing pyramidal tract fibers. J.comp.Neurol. 211, 265 - 275

KAO,C.C. (1974): Comparison of healing process in transected spinal cords grafted with autogenous brain tissue, sciatic nerve and nodose ganglion. Exp.Neurol. 44, 427 - 439

KAO,C.C., L.W.CHANG, J.M.B.BLOODWORTH (1977): Axonal regeneration across transected mammalian spinal cords: an electron microscopic study of delayed microsurgical nerve grafting. Exp.Neurol. 54, 591 - 615

KIERNAN,J.A. (1979): Hypotheses concerned with axonal regeneration in the mammalian nervous system. Biol.Rev. 54, 155 - 197

KITAMURA,T. (1980): Dynamic aspects of glial reactions in altered brains. Path.Res.Pract. 168, 301 - 343

KORTE,G.E. and J.ROSENBLUTH (1981): Ependymal astrocytes in the frog cerebellum. Anat.Rec. 199, 267 - 279

KRUGER,L. and D.S.MAXWELL (1967): Comparative fine structure of vertebrate neuroglia: Teleosts and Reptiles. J.comp.Neurol. 129, 115 - 142

- " - (1969): Wallerian degeneration in the optic nerve of a reptile : an electronmicroscopic study. Am.J.Anat. 125, 247 - 270

KUWABARA,T. (1975): Development of the optic nerve of the rat. Invest.Ophthalmology 14, 732 - 745

LANDIS,D.M.D. and T.S.REESE (1974): Arrays of particles in freeze-fractured astrocytic membranes. J.Cell Biol. 60, 316 - 320

- " - (1981): Membrane structure in mammalian astrocytes: a review of freeze-fracture studies on adult, developing, reactive and cultured astrocytes. J.exp.Biol. 95, 35 - 48

LANDIS,D.M.D. and T.S.REESE (1981 a): Astrocyte membrane structure: changes after circulatory arrest. J.Cell Biol. 88, 660 - 663

LANDIS,D.M.D. and L.A.WEINSTEIN (1983): Membrane structure in cultured astrocytes. Brain Res. 276, 31 - 41

LANE,N.J. and H.J.CHANDLER (1980): Definitive evidence for the existence of tight junctions in vertebrates. J.Cell Biol. 86, 765 - 774

LANNERS,H.N. and B.GRAFSTEIN (1980): Effect of a conditioning lesion on regeneration of goldfish optic axons: ultrastructural evidence of enhanced outgrowth and pinocytosis. Brain Res. 196, 547 - 553

LASEK,R.J., J.G.MCQUARRIE, J.R.WUJEK (1981): The central nervous sytem regeneration problem: Neuron and environment. In: Posttraumatic peripheral nerve regeneration; Experimental basis and clinical implications, ed. by A.Gorio et al. Raven Press, New York pp. 59 - 70

LEGROS-CLARK,W.E. (1942): The problem of neuronal regeneration in the central nervous system. I. The influence of spinal ganglia and nerve fragments grafted in brain. J.Anat.(Lond.) 77, 20 - 48

- " - (1943): The problem of neuronal regeneration in the central nervous sytem. II. The insertion of peripheral nerve stumps into the brain. J.Anat.(Lond.) 77, 251 - 259

LO,R.Y.S. and R.L.LEVINE (1980): Time course and pattern of optic fiber regeneration following tectal lobe removal in the goldfish. J.comp.Neurol. 191, 295 - 314

LUND,R.D. and A.H.BUNT (1976): Prenatal development of central optic pathways in albino rats. J.comp.Neurol. 165, 247 - 264

MAIER,W. and H.WOLBURG (1979): Regeneration of the goldfish retina after exposure to different doses of Ouabain. Cell Tiss.Res. 202, 99 - 118

MASSA,P.T. and E.MUGNAINI (1982): Cell junctions and intramembrane particles of astrocytes and oligodendrocytes: a freeze-fracture study. Neuroscience 7, 523 - 538

MATTHEWS,M.A., M.F.S.ONGE, C.L.FACIANE, J.B.GELDERD (1978): Spinal cord transection: A quantitative analysis of elements of the connective tissue matrix formed within the site of lesion following administration of Piromen, cytoxan, or trypsin. Neuropath.Appl.Neurobiol. 5, 161 - 180

MCQUARRIE,I.G. and B.GRAFSTEIN (1981): Effect of a conditioning lesion on optic nerve regeneration in goldfish. Brain Res. 216, 253 - 264

MEDA,P., A.PERRELET, L.ORCI (1979): Increase of gap junctions between pancreatic B-cells during stimulation of insulin secretion. J.Cell Biol. 82, 441 - 448

MIRAGALL,F. (1983): Evidence for orthogonal arrays of particles in the plasma membranes of olfactory and vomeronasal sensory neurons of vertebrates. J.Neurocytol. 12, 567 - 576

MUCHNICK,N. and E.HIBBARD (1980): Avian retinal ganglion cells resistant to degeneration after optic nerve lesion. Exp.Neurol. 68, 205 - 216

MUGNAINI,E. (1982): Membrane specializations in neuroglial cells and rat neuron-glia contacts. In: Neuronal-glial cell interrelationships, ed. by T.A.Sears, Dahlem Konferenzen 1982, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York pp. 39 - 56

MURRAY,M. (1976): Regeneration of retinal axons into the goldfish optic tectum. J.comp.Neurol. 168, 175 - 195

NORDLANDER,R.H. and M.SINGER (1978): The role of ependyma in regenration of the spinal cord in the urodele amphibian tail. J.comp.Neurol. 180, 349 - 374

OMLIN,F.X., A.BISCHOFF, H.MOOR (1980): Myelin and glial membrane structures in the optic nerve of normal and Jimpy mouse. J.Neuropathol.exp.Neurol. 39, 215 - 231

PANNESES,E., L.LUCIANO, S.IURATO, A.REALE (1977): Intercellular junctions and other membrane specializations in developing spinal ganglia; a freeze-fracture study. J.Ultrastruct.Res. 60, 169 - 180

PETERS,A., S.L.PALAY, H.deF.WEBSTER (1976): The fine structure of the nervous sytem: The neurons and supporting cells. W.B.Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto

PIATT,J. (1955): Regeneration in the central nervous system of amphibia. In: Regeneration in the central nervous system, ed. by W.F.Windle, Charles C. Thomas, Springfield, Illinois pp. 20 - 46

POLYAK,S.L. (1957): The vertebrate visual system. Chicago: University of Chicago Press

PURVES,D. (1982): Guidance of axons during development and after nerve injury. In: Repair and regeneration of the nervous system. ed. by J.G.Nicholls, Dahlem Konferenzen 1982, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York pp. 107 - 125

RAISMAN,G. (1985): Specialized neuroglial arrangement may explain the capacity of vomeronasal axons to reinnervate central neurons. Neuroscience 14, 237 - 254

RASH,J.E. and M.H.ELLISMAN (1974): Studies of excitable membrane. I. Macromolecular specializations of the neuromuscular junction and the non-junctional sarcolemma. J.Cell Biol. 63, 567 - 586

REIER,P.J. (1979): Penetration of gafted astrocytic scars by regenerating optic nerve axons Xenopus tadpoles. Brain Res. 164, 61 - 68

REIER,P.J., L.J.STENSAAS, L.GUTH (1983): The astrocytic scar as an impediment to regeneration in the central nervous system. In: Spinal cord reconstruction, ed. by C.C.Kao, R.P.Bunge, P.J.Reier, Raven Press, New York pp. 163 - 195

REIER,P.J. and H.deF.WEBSTER (1974): Regeneration and remyelination of Xenopus tadpole optic nerve fibers following transection or crush. J.Neurocytol. 3, 591 - 618

RICHARDSON,P.M., V.M.K.ISSA, A.J.AGUAYO (1984): Regeneration of long spinal axons in the rat. J.Neurocytol. 13, 165 - 182

RICHARDSON,P.M., V.M.K.ISSA, S.SHEMIE (1982): Regeneration and retrograde degeneration of axons in the rat optic nerve. J.Neurocytol. 11, 949 - 966

RICHARDSON,P.M., U.M.MCGUINNESS, A.J.AGUAYO (1980): Axons from CNS neurons regenerate into PNS grafts. Nature 284, 264 - 265

ROBENEK,H. and H.GREVEN (1980): Orthogonal arrays of intramembranous particles in the basal plasma membranes of the epidermis of larval Salamandra salamandra (L.) (Amphibia,Urodela). J.Ultrastruct.Res. 72, 119 - 122

SCHLOTE,W. (1970): Nervus opticus und experimentelles Trauma. Monographien aus dem Gesamtgebiet der Neurologie und Psychiatrie, Heft 131, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York

SCOTT,T.M. and J.POOTE (1981): A study of degeneration, scar formation and regeneration after section of the optic nerve in the frog, Rana pipiens. J.Anat. 133, 213 - 226

SIMPSON,S.B. (1983): Fasciculation and guidance of regenerating central axons by the ependyma. In: Spinal cord reconstruction, ed. by C.C.Kao, R.P.Bunge, P.J.Reier, Raven Press, New York pp. 151 - 162

SIMPSON,S.B. (1968): Morphology of the regenerated spinal cord in the lizard, Anolis carolinensis. J.comp.Neurol. 134, 193 - 210

SINGER,M., R.H.NORDLANDER, M.EGAR (1979): Axonal guidance during embryogenesis and regeneration in the spinal cord of the newt: The Blueprint hypothesis of neuronal pathway patterning. J.comp.Neurol. 185, 1 - 22

SPRINGER,A.D., S.S.EASTER, B.W.AGRANOFF (1977 a): The role of the optic tectum in various visually mediated behaviors of goldfish. Brain Res. 128, 393 - 404

SPRINGER,A.D., A.M.HEACOCK, J.T.SCHMIDT, B.W.AGRANOFF (1977 b): Bilateral tectal innervation by regenerating optic fibers in goldfish: a radioautographic, electrophysiological and behavioral study. Brain Res. 128, 417 - 427

STAEHELIN,L.A. (1973): Further observations on the fine structure of freeze-cleaved tight junctions. J.Cell Sci. 13, 763 - 786

STENSAAS,L.J. (1983): Regeneration in the spinal cord of the newt Notopthalamus (Triturus) pyrrhogaster. In: Spinal cord reconstruction, ed. by C.C.Kao, R.P.Bunge, P.J.Reier, Raven Press, New York pp. 121 - 149

STENSAAS,L.J. and E.R.FERINGA (1977): Axon regeneration across the site of injury in the optic nerve of the newt Triturus pyrrhogaster. Cell Tiss.Res. 179, 501 - 516

STOLINSKI,C. and A.S.BREATHNACH (1982): Freeze-fracture replication of mammalian peripheral nerve. A review. J.Neurol.Sci. 57, 1 - 28

TURNER,J.E. and M.SINGER (1975): The ultrastructure of regeneration in the served newt optic nerve. J.exp.Zool. 190, 249 - 268

USUKURA,J. and E.YAMADA (1978): Observation on the cytolemma of the olfactory receptor cell in the newt. I. Freeze replica analysis. Cell Tiss.Res. 188, 83 - 98

VALAT,J., A.PRIVAT, J.FULCRAND (1983): Multiplication and differentiation of glial cells in the optic nerve of the postnatal rat. Anat.Embryol. 167, 335 - 346

VARON,S.S. and R.P.BUNGE (1978): Trophic mechanisms in the peripheral nervous system. Ann.Rev.Neurosci. 1, 327 - 361

VAUGHN,J.E. and A.PETERS (1967): Electron microscopy of the early postnatal development of fibrous astrocytes. Am.J.Anat. 121, 131 - 152

VERAA,R.P. and B.GRAFSTEIN (1981): Cellular mechanisms for recovery from nervous system injury: a conference report. Exp.Neurol. 71, 6 - 75

WEISS,P. and A.C.TAYLOR (1946): Guides for nerve regeneration across gaps. J.Neurosurg. 3, 375 - 389

WINDLE,W.F. (1955): Regeneration in the central nervous system. C.C.Thomas, Springfield, Illinois

- " - (1956): Regeneration of axons in the vertebrate central nervous system. Physiol.Rev. 36, 427 - 440

WOLBURG,H. (1981): Axonal transport, degeneration and regeneration in the visual system of the goldfish. Adv.Anat.Embryol.Cell Biol. 67, 1 - 94

WOLBURG,H. and R.KÄSTNER (1984 a): Atrsoglial-axonal interrelationship during regeneration of the optic nerve in goldfish. A freeze-fracture study. J.Hirnforsch. 25, 493 - 504

- " - (1984 b): Is the architecture of astrocytic membrane crucial for axonal regen-ration in the central nervous system ? Naturwiss. 71, 484 - 485

- " - (1984 c): Astrocyten-Heterogenität bei Wirbeltieren. Verh.Dtsch.Zool.Ges. 77, 346

WOLBURG,H., R.KÄSTNER, G.KURZ-ISLER (1983): Lack of orthogonal particle assemblies and presence of tight junctions in astrocytes of the goldfish (Carassius auratus). A freeze-fracture study. Cell Tiss.Res. 234, 607 - 619

WOLFF,J.R. and T.BÄR (1976): Development and adult variations of the pericapillary glial sheath in the cortex of rat. In: The cerebral vessel wall, ed. by J.Cervos-Navarro, F.Matakas, Raven Press, New York pp. 7 - 13

WUJEK,J.R. and P.J.REIER (1984): Astrocytic membrane morphology: Differences between mammalian and amphibian astrocytes after axotomy. J.comp.Neurol. 222, 607 - 619

Meine akademischen Lehrer:

Prof.Dr.D.Ammermann
Prof.Dr.H.P.T.Ammon
Prof.Dr.R.Apfelbach
Prof.Dr.C.-F.Bardele
Prof.Dr.Brodersen
Prof.Fink
Dr.Gerlach
Prof.Dr.J.Guglielmi
Prof.Dr.W.Harder
Prof.Dr.Haupt
Prof.Dr.Hohenester
Prof.Dr.E.Kulzer
Prof.Dr.Matthes
Prof.Dr.D.Mecke
Prof.Dr.Moeller
Prof.Dr.H.Netzel
Prof.Dr.W.Pfeiffer
Dr.H.-J.Reinecke
Prof.Dr.Remmert
Prof.Dr.G.Rüppell
Prof.Dr.W.Schlote
Prof.Dr.K.Schmidt-Koenig
Prof.Dr.H.-U.Schnitzler
Prof.Dr.Seitz
Prof.Dr.M.Siess
Prof.Dr.R.Siewing
Prof.Dr.D.Sperlich
Prof.Dr.Steger
Prof.Dr.P.Wenk
Prof.Dr.K.Wöhrmann
PD Dr.H.Wolburg

Lebenslauf

Am 8. März 1956 wurde ich als drittes Kind des Prokuristen Alfred Kästner und seiner Frau Irma Kästner geb. Knöllinger in Nürnberg geboren.

Von 1962 bis 1966 besuchte ich die Volksschule, danach das Hans-Sachs-Gymnasium in Nürnberg, wo ich 1975 das Abitur machte. Von 1972 bis 1984 war ich beim Katastrophenschutz und Rettungsdienst des Deutschen Roten Kreuzes tätig.

Mein Studium begann ich im Wintersemester 1975/76 an der Universität Erlangen, wo ich im Wintersemester 1977/78 das Vordiplom in Biologie machte. Seit dem Sommersemester 1978 bin ich an der Universität Tübingen; hier legte ich im Mai 1982 meine Biologie-Diplomprüfung ab.

Seit 1979 bin ich mit der Diplom-Biologin Dagmar Kästner geb. Poppen verheiratet und habe zwei Söhne.